

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München

(Direktor: Professor Dr. W. Seitz)

**Zusammenfassende Betrachtung der
experimentellen Grundlagen zum Problem
der Wirkungsweise
hyaluronidasehemmender Substanzen**

Inaugural - Dissertation

Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität

zu München

vorgelegt von

Ingrid Arnold

aus München

1965

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München

(Direktor : Professor Dr. W. Seitz)

**Zusammenfassende Betrachtung der
experimentellen Grundlagen zum Problem
der Wirkungsweise
hyaluronidasehemmender Substanzen**

Inaugural - Dissertation

Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität

zu München

vorgelegt von

Ingrid Arnold

aus München

1965

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. Seitz

Dekan: Professor Dr. O. Hug

Tag der mündlichen Prüfung: 16.2.1965



Inhaltsverzeichnis

Einleitung	5
Problematik	7
Methodiken	12
Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse	17
Einfluß verschiedener antirheumatisch wirksamer Substanzen auf das Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten und gesunden Versuchspersonen	19
Einfluß verschiedener Substanzen auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei adrenaletomierten Ratten	60
Bestimmung des Ascorbinsäuregehaltes der Nebenniere bei intakten Ratten	67
Bestimmung des Ascorbinsäuregehaltes der Nebennieren an hypophysektomierten Ratten	74
Einfluß einiger in Versuchsgruppe 1 geprüfter Substanzen auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei hypophysektomierten Ratten	77
Einfluß von Adrenalin und Noradrenalin auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading	82
Adrenalin-dauerinfusion	93
Untersuchungen zur Hyaluronidasehemmung durch Acetylcholin und Dimethylaminoäthanolglutamat an adrenaletomierten Ratten	102
Acetylcholin und Dimethylaminoäthanolglutamat bei intakten Ratten	107
Blockierung der Hyaluronidasehemmung durch Adrenochrom bei intakten und adrenaletomierten Ratten	110
Bestimmung des Katecholamingehaltes der Nebennieren unter dem Einfluß verschiedener Substanzen	118
Katecholaminbestimmungen der Nebennieren nach Adrenalinapplikation	137
Blockierung der Hyaluronidasehemmung durch Adrenolytica	142
Blockierung des Nebennierenmarkes durch Pendiomid als Ganglienblocker	160

Untersuchung zur hyaluronidasehemmenden Wirkung des Reserpins	167
Einfluß monoaminoxidasehemmender Substanzen auf die Hyaluronidaseaktivität im Spreadingtest	176
Das Verhalten der Hyaluronidaseaktivität bei länger dauernder Applikation hyaluronidasehemmender Substanzen.	182
Diskussion	189
Zusammenfassung	199

Einleitung

Es liegen zahlreiche experimentelle Untersuchungen über den Einfluß der verschiedensten Substanzen auf die Hyaluronidaseaktivität vor. Diesen Arbeiten, die unten näher erwähnt werden, wurden die verschiedensten Untersuchungsmethoden und Versuchsmodelle zugrundegelegt, wobei teils in vitro, anderenteils in vivo gearbeitet wurde. Nur ein Teil der hyaluronidasehemmenden Stoffe zeigt auch in vitro eine Wirkung. Die meisten hyaluronidasehemmenden Substanzen zeigen nur in vivo bei bestimmten Versuchsanordnungen einen hemmenden Einfluß auf die Hyaluronidaseaktivität. Der Wirkungsmechanismus dieser in vivo hyaluronidasehemmenden Pharmaka war bisher weitgehend ungeklärt. In den letzten Jahren sind zahlreiche Untersuchungen in Angriff genommen worden, die den vorliegenden Wirkungsmechanismus näher aufklären sollten. Es wurden hierfür vor allem die in der Klinik antirheumatisch wirksamen Substanzen herangezogen, wobei Einigkeit darüber besteht, daß zwischen hyaluronidasehemmender Wirkung und antirheumatischem Effekt keine Identität besteht. Dennoch wurde die hyaluronidasehemmende Wirkung als Teileffekt diskutiert, dessen experimentelle Bearbeitung mangels anderer Objektivierungsmöglichkeit der Gesamtwirkung zu begrüßen ist. Es erscheint für die Aufklärung der Wirkung antirheumatischer Substanzen somit wesentlich, die Untersuchungen auf diesem Sektor vorangetrieben und Erkenntnisse gesammelt zu haben, auch wenn das Ausmaß der Bedeutung des Mucopolysaccharid-Mucopolysaccharidasen-Systems für die Pathologie der rheumatischen Erkrankungen nicht restlos geklärt ist. Dennoch dürfte es im Hinblick auf die dringende Erforschung rheumatologischer Fragen entscheidend sein, hier Untersuchungen in Angriff zu nehmen, und nicht vor dem Problem der Komplexität der noch weitgehend ungeklärten Vorgänge zu kapitulieren. Vielleicht erweisen sich die Untersuchungsergebnisse zu einem späteren Zeitpunkt als brauchbares Glied in der noch zu schließenden Beweiskette. Schon jetzt erscheint es gerechtfertigt, Zusammenhänge und Parallelen zu den bereits bekannten Befunden zu suchen und so die Bedeutung der gefundenen Ergebnisse

für das Gesamtproblem abzuschätzen.

Es war die Aufgabe der folgenden Zusammenstellung, die zahlreichen vorliegenden Untersuchungsergebnisse über den Wirkungsmechanismus in vivo hyaluronidasehemmender Substanzen zu ordnen, Zusammenhänge aufzudecken und ihre Bedeutung für die Erforschung der Therapie und Pathologie des Rheumatismus zu diskutieren.

Problematik

Die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität soll nach Auffassung mancher Autoren einen Teileffekt der antirheumatischen Wirkung darstellen. Es ist bis heute noch nicht sicher erwiesen, ob eine erhöhte Hyaluronidaseaktivität bei der chronischen Polyarthrititis pathogenetisch eine Rolle spielt. Zu beachten ist dabei, daß mit den üblichen Auswertungsmethoden nur jeweils ein gewisser Sektor der komplexen biologischen Reaktion Rheumatismus erfaßt werden kann (D o m e n j o z ¹).

Wegen des Fehlens geeigneter Bestimmungsmethoden ist der Nachweis schwierig, insbesondere auch deshalb, weil methodisch eine erhöhte Permeabilität im Tierversuch schwer von einer speziellen Hyaluronidasewirkung zu trennen ist, da die Permeabilität nicht allein von der depolymerisierenden Wirkung der Hyaluronidase auf die Hyaluronsäure abhängt und die Hyaluronidase auch auf andere Mucopolysaccharidsäuren einen abbauenden Einfluß ausübt. Zudem stellen die Hyaluronidasen keine exakt definierbaren Substanzen dar und unterscheiden sich sicher voneinander.

Den gleichen Schwierigkeiten begegnet man bei der Auswertung der Versuchsergebnisse über eine hyaluronidasehemmende Wirkung antirheumatischer Substanzen. Diese haben in üblicher Dosierung meist nur in vivo einen hemmenden Effekt auf den permeabilitätssteigernden Einfluß der Hyaluronidase, weshalb ein direkter Antihyaluronidaseeffekt bereits fraglich erscheint. Auch ist im Tierversuch der hyaluronidasehemmende Effekt nicht sicher von einem allgemein permeabilitätshemmenden Effekt zu trennen, da im Gewebe der Versuchstiere sicher eine bestimmte Menge Gewebshyaluronidase enthalten ist.

Bereits E p p i n g e r ² zeigte einen permeabilitätssteigernden Effekt des Serums von Rheumakranken am Feuersalamander. Für eine erhöhte Hyaluronidaseaktivität des Rheumatikerserums sprechen sich A b r a h a m und G l y n n ³, D o r f m a n ⁴, E v e r s ⁵, G l i c k und S y l v é n ⁶, G r a i s

und Glick ⁷, Guerra ⁸, Hartmann und Matijévic ⁹, Jahnke ¹⁰, Klempner ¹¹, Meyer ¹², Rimington ¹³, Seifter ¹⁴, Schoen ¹⁵, Stepantschitz ¹⁶, und Terbrüggen ¹⁷ aus.

Auch Kroth ¹⁸ hat zeigen können, daß im Spreadingtest an weißen Ratten die Zugabe von Rheumatikerserum die Farbstoffausbreitung gegenüber der Zugabe von Normalserum wesentlich beschleunigt und zwar sowohl ohne Beigabe, als auch in großem Ausmaß nach Beigabe von Hyaluronidase zur Farbstofflösung. Es ist deshalb zu diskutieren, ob das Rheumatikerserum nicht nur eine erhöhte Hyaluronidaseaktivität besitzt, sondern außerdem eine aktivierende Wirkung auf die Hyaluronidase ausübt.

Die pathogenetische Bedeutung einer etwaigen vermehrten Hyaluronidaseaktivität des Rheumakranken stellt man sich folgendermaßen vor: Die Hyaluronsäuren, die chemisch Mucopolysaccharide sind, bilden den größten Anteil der Zwischenzellsubstanzen und werden durch das Enzymgemisch Hyaluronidase durch Depolymerisation und Hydrolyse abgebaut. Eine vermehrte Hyaluronidaseaktivität beeinflusst entsprechend den Abbau der Hyaluronsäuren und damit den Grad der Permeabilität bis zur Steigerung ins Pathologische (Eppinger ¹⁹, Epstein ²⁰, Hollmann ²¹, Mathies ²², Ratschow ²³, Slauck ²⁴, Schoen ²⁵).

Wenn man sich die Wirkung antirheumatischer Behandlungsmethoden als hemmende Beeinflussung der vermehrten Hyaluronidaseaktivität erklären will, so kann dieser Effekt bei den meisten Antirheumatika nur einen Teileffekt der Therapie darstellen. Auch wird die Hyaluronidasehemmung erst nach einer relativ langen Latenzzeit subjektiv wirksam werden können, da die Erfolge der Normalisierung der Permeabilitätsverhältnisse nicht in kurzer Zeit die vorhandenen Beschwerden zum Verschwinden bringen kann. Auch bei den bereits rasch "antirheumatisch" wirkenden Mitteln wird eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität lediglich einen Späteffekt darstellen können. Die antirheumatische Wirkung setzt sich deshalb aus mehreren, zum Teil noch unbekannten Komponenten zusammen. Hierzu gehören der ebenfalls schwer objektivierbare analgetische Effekt, sowie die antiphlogistische Wirkung, die nicht immer dem hyaluronini-

dasehemmenden Effekt parallel geht, wie auch D o m e n j o z ¹ zeigen konnte. Es sind antirheumatisch wirksame Behandlungsmethoden ohne sofortigen analgetischen Effekt bekannt, die deshalb erst nach längerer Gabe bzw. längerer Latenzzeit wirksam werden. Es sei hier an die im Moor wirksamen Substanzen, an den Schwefel, Einfluß von Radium-Emanation und an das Chloroquin, deren hyaluronidasehemmende Wirkung bekannt ist ^{26, 27, 28, 29, 30}, erinnert.

Auch sind im Tierversuch hyaluronidasehemmend wirksame Substanzen bekannt, die nicht zu den Antirheumatika zählen. So führt D o m e n j o z ¹ Opiate an. Diese Tatsache bildet solange keinen Gegenbeweis für die antirheumatische Natur einer Hyaluronidasehemmung, bis eine nicht vorhandene antirheumatische Wirkung dieser Substanzen bewiesen ist. Es dürfte noch nicht untersucht worden sein, ob diese Substanzen trotz ihrer hyaluronidasehemmenden Wirkung keinen antirheumatischen Effekt besitzen. Die antirheumatische Wirkung ist ohnehin ein symptomatischer Begriff und vorläufig nicht pharmakologisch faßbar. Andere Gründe verbieten, die Opiate in der Behandlung des Rheumatismus einzusetzen, obwohl sie rein symptomatisch, nicht zuletzt auch wegen ihrer analgetischen Wirkung zu den Antirheumatika gezählt werden müßten.

Andere Stoffe, die nicht analgetisch, aber hyaluronidasehemmend wirken, sind ebenfalls vermutlich noch nicht über längere Zeit bei der chronischen Polyarthrititis gegeben worden, so daß über ihre antirheumatische Wirkung vorläufig nichts ausgesagt werden kann. Gelegentlich ist durch Zufall ein antirheumatischer Effekt von hyaluronidasehemmenden Substanzen gefunden worden, wie z.B. beim Ipronicid, das eine monoaminoxidasehemmende Substanz darstellt. Auch erscheint es wichtig, wie später zu zeigen sein wird, über welchen Wirkungsmechanismus der hyaluronidasehemmende Effekt einer Substanz zustande kommt. Nur bestimmte Wirkungsabläufe scheinen die Hyaluronidasehemmung wirksam werden zu lassen. Daneben mag auch der vorliegende Typ des rheumatischen Krankheitsbildes für das Wirksamwerden unterschiedlich wirkender Hyaluronidasehemmer von Bedeutung zu sein. Aus diesen Gründen sind die dieser Arbeit zugrundegelegten Untersuchungsergebnisse kein Beweis für die antirheumatische Wirkung der untersuchten Substanzen, sondern befassen sich

vorwiegend lediglich mit dem hemmenden Einfluß der Antirheumatika auf das durch Hyaluronidase verstärkte Farbstoff-Spreading. In der folgenden Zusammenstellung wurde in erster Linie auf die Untersuchungen von M a t h i e s und Mitarbeitern zurückgegriffen, die das genannte Problem in letzter Zeit ausführlich bearbeitet haben. Deshalb werden auch die diesen Arbeiten zugrundeliegenden Methodiken dargestellt. Daneben wurden die Angaben aus bereits vorliegenden Arbeiten anderer Autoren herangezogen.

- 1) Domenjoz, R.: Arch. exp. Path. Pharmacol. 255, 14 (1955)
- 2) Eppinger, H.: Klinik und Pathologie der Permeabilitätsstörungen
Springer Verlag Wien 1944
- 3) Abrahams, D. G. u. Glynn, L. E.: Clin. Sci. 8, 171 (1949)
- 4) Dorfman, A.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 52, 1017 (1950)
- 5) Evers, A.: zit. Schliephake, E.: Münch. med. Wschr. 97, 56 (1955)
- 6) Glick, D. u. Sylvén, B.: Science 113, 388 (1951)
- 7) Grais, M. L. u. Glick, D.: J. Infect. Dis. Chicago 85, 101 (1949)
- 8) Guerra, F.: Science 103, 696 (1946)
- 9) Hartmann, F. u. Matijevic, G.: Zschr. Rheumaforsch. 11, 23 (1952)
- 10) Jahnke, K. H.: Arztl. Wschr. 6, 1153 (1951)
- 11) Klemperer, A.: Amer. J. Med. 10, 405 (1951)
- 12) Meyer, K.: Physiol. Rev. 27, 335 (1947)
- 13) Rimington, C.: Ann. Rheumat. Dis. 8, 34 (1949)
- 14) Seifter, J. u. Mitarb.: Proc. Soc. exp. Med. Biol. 72, 277 (1949)
- 15) Schoen, R. u. Tischendorf, W.: Krankheiten der Knochen, Gelenke
und Muskeln, Handb. d. Inn. Med. VI, 1, 707 (1954)
- 16) Stepanitschitz, G.: Oesterr. Arztekongr. d. Van-Swieten-Ges.
Salzburg, September 1953
- 17) Terbrüggen, A.: Dtsch. med. J. 5, 312 (1954)
Arztl. Prax. 6, 40 (1954)
- 18) Krott, H.: Diss. München 1960
- 19) Eppinger, H.: Klinik und Pathologie der Permeabilitätsstörungen
Springer Verlag Wien 1944
- 20) Epstein, E. L. u. Greenspan, E. B.: Arch. int. Med. Chicago
1077 (1941)
- 21) Hollmann, W.: Heilkunst 66, 293 (1953)
- 22) Mathies, H.: Planta Medica 2, 129 u. 148 (1954)
Hippokrates 23, 617 (1952)
- 23) Ratschow, M.: Ther. Gegenw. 90, 129 (1951)
- 24) Slauck, A.: Medizinische 1447 (1952)
- 25) Schoen, R.: 9. Fortbildungskurs f. ärztl. Fortb., Regensburg Okt. 1952
Dtsch. med. Wschr. 77, 558 (1952)
- 26) Mathies, H.: Med. Mschr. 12, 685 (1958)
- 27) Mathies, H. u. v. Werther, G.: Zschr. angew. Bäder-Klimahk.
5, 503 (1958)
- 28) Mathies, H. u. Gareissen, G.: Med. Klin. 55, 190 (1960)
- 29) Wense, Th. u. Philadelphia, V.: Fund. balneo-bioclim. 4, 2 (1960)
- 30) Mathies, H. u. Will, E.: Arzneimittelforsch. 12, 694 (1962)

Methodikexf

Den im Folgenden dargestellten Untersuchungen von M a t h i e s und Mitarbeitern liegen im wesentlichen die Bestimmungen des Hyaluronidase-Spreadings sowie des Katecholamin- und Ascorbinsäure-Gehaltes der Nebennieren zugrunde. Diese Methodiken sollen deshalb ausführlicher dargestellt werden.

1) Hyaluronidase-Spreading

Als Kriterium für die Hyaluronidasehemmung wurde die Hemmung der durch Hyaluronidase vermehrten Diffusionsgeschwindigkeit einer s.c. gesetzten Farbstoffquaddel gewählt. Zu den Versuchen wurden nur männliche Ratten mit einem durchschnittlichen Gewicht von 150 bis 250 g verwendet. 24 Stunden vor dem Versuch wurde die Bauchhaut (im Falle kutaner Applikation auch die Brusthaut) der Versuchstiere mit Pilca enthaart. Unmittelbar vor und zu verschiedenen Zeiten nach Applikation der zu untersuchenden Substanzen wurde mit einer dünnen Kanüle je eine Farbstoff- (F) und eine Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel (FH) streng intracutan in die Bauchhaut gesetzt und die Farbstoffausbreitung beider Quaddeltypen jeweils nach 10 Minuten durch Markierung der Farbstoffflecken auf einen Zelluloidstreifen übertragen und anschließend durch planimetrische Ausmessung der Flächeninhalt bestimmt. Die Farbstoffquaddel wurde mit 0,1 ml einer 0,06%igen Evansblaulösung gesetzt. Die Applikation der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln erfolgte mit ebenfalls 0,1 ml der gleichen Farbstofflösung, in der 75 IE einer hochgereinigten Testeshyaluronidase pro ml Farbstofflösung gelöst waren.

Die hyaluronidasehemmende Wirkung der untersuchten Substanzen äußert sich in einer Verringerung der Farbstoffausbreitung der Farbstoff-Hyaluronidase-Lösung gegenüber dem Ausgangswert. Diese Differenz in mm^2 ist bei den einzeln beschriebenen Versuchsreihen angegeben und diente zur Grundlage der Auswertungen und der graphischen Darstellungen. Die Beobachtung der Farbstoffausbreitung der reinen Farbstoffquaddel ohne Hyaluronidasebeigabe unter Einwirkung der untersuchten Substanzen wurde in den meisten Untersuchungen vergleichsweise durchgeführt. Etwaige signifikante Differenzen geben einen Hinweis auf einen möglichen Einfluß der Versuchssub-

stanzen auf die gewebeeigene Hyaluronidase oder auf eine hyaluronidaseunabhängige permeabilitätshemmende Wirkung der zu den Untersuchungen herangezogenen Stoffe.

Die Versuche wurden in Evipan-Narkose vorgenommen. 30 mg Evipan /100 g Tier führte dabei zu einer ausreichenden Narkosetiefe. Die Barbiturate selbst beeinflussen die Hyaluronidasehemmung nicht (Wilhelmi¹).

Nach Gibbians² ist die Diffusion einer intracutan gesetzten Quaddel von dem Druck abhängig, der ihr von der Umgebung entgegengesetzt wird. Wird jetzt der Gewebswiderstand durch Hyaluronidaseeinwirkung vermindert, wirkt sich das begünstigend auf die Ausbreitung der Quaddel aus. Durch Gabe einer hyaluronidasehemmenden Substanz wird dieser Effekt wieder vermindert.

Die Ausbreitung der Quaddeln erfolgt nach Madinaveitia³ in zwei Phasen, wobei nur innerhalb der ersten 10 Minuten ein sicherer hyaluronidasehemmender Effekt vorliegt, während daran anschließend resorptive Prozesse überwiegen. Es wurde deshalb jeweils 10 Minuten nach dem Setzen der Quaddeln mit einem Tintienstift die äußerste Begrenzung der Farbstoffflecken gekennzeichnet, auf einen Zelluloidstreifen übertragen und der Flächeninhalt planimetrisch bestimmt.

Die in einigen Versuchsreihen notwendige Adrenalektomie wurde 48 Stunden vor dem Versuch in Athernarkose durchgeführt. Eine Regeneration funktionstüchtigen (akzessorischen) Nebennierengewebes ist nach Angaben von Karg⁴, Bachmann⁵ und Canalis⁶ innerhalb von zwei Tagen nicht zu befürchten.

Die adrenalektomierten Tiere wurden während dieser Zeit kohlenhydratreich ernährt und erhielten als Trinkflüssigkeit physiologische Kochsalzlösung.

Hypophysektomien wurden 24 bis 48 Stunden vor dem Versuch in Athernarkose parapharyngeal durchgeführt. Als Trinkflüssigkeit erhielten die Tiere 2%ige Rohrzuckerlösung.

Die untersuchten Substanzen wurden je nach der vorliegenden Fragestellung bzw. Applikationsmöglichkeit oral, parenteral oder kutan verabreicht. Bei Bäder-Applikationen wurden die Tiere in besonders

konstruierten Stahldrahtkäfigen, die ein Verschlucken der Badeflüssigkeit und somit eine enterale Resorption unmöglich machten, bis auf den Kopf und mit enthaarter Brust- und Bauchhaut in die entsprechende Badeflüssigkeit für 30 Minuten eingetaucht.

Die Untersuchungen mit der Methodik des Hyaluronidase-Spreadings am Menschen wurden an 19- bis 25-jährigen gesunden Versuchspersonen durchgeführt. Als Injektionsstellen wurden die Bauchhaut und die Streckseite der Oberschenkel gewählt, da aus Testversuchen ersichtlich war, daß an diesen Stellen die Hemmung nicht gleichmäßig auftrat. Als Ursache hierfür kann der von Heim⁹, sowie Koch, Heim und Eschweiler¹⁰ bei Großtieren festgestellte Unterschied an Hyaluronsäuregehalt in verschiedenen Körperteilen diskutiert werden.

2) Katecholamingehalt der Nebennieren

Die Bestimmung des Katecholamingehaltes der Nebennieren erfolgte nach der Methodik von Brüggemann, Karg und Käßpeler⁷. Die Tiere wurden 24 Stunden vor Beginn der Versuche in Äthernarkose an der Bauchhaut (im Falle kutaner Applikation auch an der Brusthaut) enthaart und zu verschiedenen Zeiten nach Behandlung mit der jeweils zu untersuchenden Substanz bzw. ohne Applikation als Vergleichsgruppe dekapitiert. Daran anschließend wurden sofort die beiden Nebennieren entnommen, sorgfältig vom umgebenden Gewebe getrennt, gewogen und in einem trockenen Zentrifugenglas (10 ml) mit 5,0 ml 4%iger Trichloressigsäure, ca. 100 mg Celite 535 und etwas Quarzsand mit einem Glasstab zerrieben. Daraufhin wurde das Ganze im Vakuumverfahren durch einen Glasfilter 3G3 filtriert und 2,0 ml des Filtrats in ein Reagenzglas abpipettiert. Dazu wurde 0,1 ml einer gesättigten Bromwasserlösung (3,5 g auf 100 ml Aqua dest.) und nach kurzem Schütteln innerhalb von 5-10 sec. 0,1 ml Anilin (3 Vol.-% in $9\text{N H}_2\text{SO}_4$) gegeben. Nachdem nochmals alles gut geschüttelt und außerdem 0,5 ml Dinitrophenylhydrazin in 2%iger Lösung von $9\text{N H}_2\text{SO}_4$ zugefügt worden war, wurde das Reagenzglas 5 Minuten in ein kaltes Wasserbad gestellt, in dem dann unter nochmaligem Schütteln vorsichtig 5 ml 70%iger H_2SO_4 zugesetzt wurden.

Die Extinktion war im Elko II- bzw. Eppendorf-Photometer mit Filter 530 $m\mu$ bzw. 546 $m\mu$ gegen den Blindwert abzulesen, der durch das gleiche Verfahren ohne Drüse ermittelt wurde. Die Umrechnung auf den Katecholamingehalt erfolgte mittels einer Eichkurve, die mit der gleichen Methodik unter Verwendung bekannter Adrenalin/Noradrenalinmengen zu erhalten ist.

Der Katecholamingehalt wurde auf 100 g Tiergewicht bezogen. Nach Untersuchungen von H ö k f e l t ⁸ steht der Katecholamingehalt der Nebennieren in einem bestimmten Verhältnis zum Tiergewicht, nicht aber zum Nebennierengewicht, was auf den unterschiedlichen Gewichtsanteil der Nebennierenrinde zurückzuführen ist, während das Verhältnis von Nebennierenmark-Gewicht zu Tiergewicht relativ konstant ist.

3) Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren

Auch die Methodik der Ascorbinsäurebestimmung erfolgte ebenfalls nach B r ü g g e m a n n , K a r g und K ä p p e l e r ⁷. Sie ist im Prinzip die gleiche wie bei der Bestimmung des Katecholamingehaltes. Zu beachten ist nur, daß die Probe zuerst 5 Minuten in ein siedendes Wasserbad getaucht wird, bevor sie für 5 Minuten in das kalte Wasserbad gestellt wird. Die so erhaltenen Extinktionswerte entsprechen dem Gesamtgehalt der Nebennieren an Katecholaminen und Ascorbinsäure. Dementsprechend müssen also die Extinktionswerte der Katecholamine von denen mit obiger Methodik ermittelten subtrahiert werden. Die erhaltenen Ascorbinwerte sind auf Nebennierengewicht zu beziehen.

- 1) Wilhelmi, G.: zit. Domenjoz, R.: Arch. exp. Path. Pharmacol.
225, 14 (1955)
- 2) Gibian, H.: Angew. Chemie 63, 105 (1951)
- 3) Madinaveitia, J.: Biochem. J. 33, 347 (1939)
- 4) Karg, H.: persönliche Mitteilung
- 5) Bachmann, R.: Handbuch der mikrosk. Anatomie, Springer-Verlag
Berlin-Göttingen-Heidelberg 1954, Band VI/5, 222
- 6) Canalis, P.: Int. Mschr. Anat. 4, 312 (1887)
- 7) Brüggemann, J., Karg, H. u. Käppeler, O.: Vitamine u. Hormone
7, 200 (1956)
- 8) Hökfelt, B.: Acta Physiol. Scand. 25 (1951) Suppl. 92
- 9) Heim, E.: Berlin. u. Münch. Tierärztl. Wschr. 374 (1953)
- 10) Koch, W., Heim, E. u. Eschweiler, J.: Acta Endocrinol.
16, 369 (1954)

Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

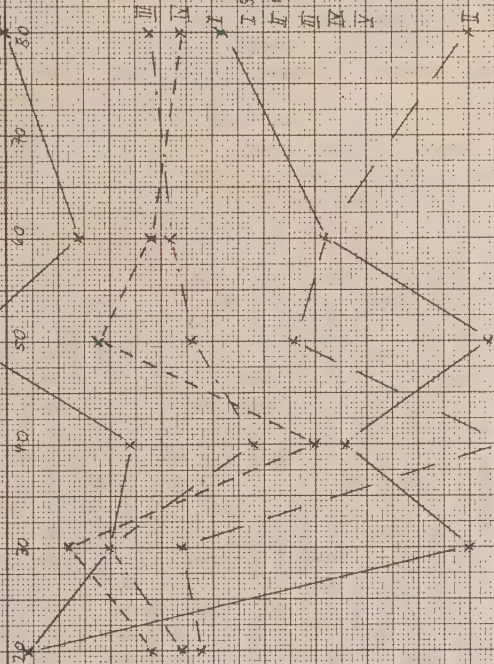
Die statistische Auswertung der Ergebnisse wurde von Herrn Dipl.-Math. K. Liebrich vorgenommen. Im Folgenden wird eine kurze Darstellung des jeweiligen Vorgehens gegeben.

1) Hyaluronidase-Spreading

Zunächst wurde der methodische Fehler an Hand eines rein methodischen Versuches erfaßt. Die Aufgliederung der Gesamtvariabilität geht aus Abbildung 1 hervor. Da die Tiere auf einem verschiedenen Niveau reagieren, wurden der Auswertung die jeweiligen Mittelwertsdifferenzen gegenüber dem Ausgangswert zugrundegelegt. Die Veränderung in den Diffusionsgeschwindigkeiten während eines Versuches konnten als gesichert angenommen werden, wenn sich aus den Varianz-Analysen ergab, daß die Hypothese, es lägen keine Mittelwertsunterschiede vor, mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von höchstens 5% zu verwerfen war. Die Irrtumswahrscheinlichkeit 5% wurde als schwache, die von maximal 1% als ausreichende statistische Sicherung angesehen. Die im Anschluß an die Varianz-Analyse notwendige Prüfung, zwischen welchen Zeitpunkten speziell gesicherte Unterschiede vorliegen, war mit dem Student-Test, später mit dem inzwischen entwickelten exakteren Verfahren des Duncan-Tests vorgenommen worden.

2) Bestimmung des Katecholamin- und Ascorbinsäuregehaltes der Nebennieren

Mittels des Bartlett-Tests wurde zunächst festgestellt, ob die zu den verschiedenen Bestimmungszeiten beobachteten Varianzen untereinander homogen sind. Im Falle der Homogenität war die Durchführung der einfachen Varianz-Analyse zulässig. Mit Hilfe des Duncan-Tests wurde festgestellt, zwischen welchen Versuchszeiten speziell statistisch gesicherte Mittelwertsdifferenzen vorliegen. Die hierbei ermittelten Irrtumswahrscheinlichkeiten, mit denen die jeweiligen Differenzen gesichert sind, sind in jeder Versuchsreihe zusammen mit den zugehörigen Mittelwertsdifferenzen in einer Matrix angegeben.



I 500 mg Na - Salicylat / kg S.C. (int. R.)
 II 150 mg Na - Salicylat / kg S.C. (int. R.)
 III 75 mg Na - Salicylat / kg S.C. (int. R.)
 IV 50 mg Na - Salicylat / kg S.C. (int. R.)
 V 10 mg Na - Salicylat / kg S.C. (int. R.)

Einfluß verschiedener antirheumatisch wirksamer Substanzen auf das Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten und gesunden Versuchspersonen

In den hier zu besprechenden Versuchsreihen wurde mit der geschilderten Versuchsanordnung die hemmende Wirkung einer Reihe der Substanzen, deren Einfluß auf das Hyaluronidase-Pfotenödem oder das Hyaluronidase-Spreading bereits bekannt war, überprüft. Daneben wurde eine Reihe von Substanzen in die Untersuchung einbezogen, über die einschlägige Untersuchungen noch nicht vorlagen. Schließlich wurden Vergleichsversuche mit physiologischer Kochsalzlösung, Lösungsmitteln usw. durchgeführt, um Einflüsse der Versuchsanordnung auszuschließen.

Die Applikationsweise der Substanzen war unterschiedlich, teilweise entsprechend den bereits vorliegenden, mit bestimmten Applikationsformen gewonnenen Ergebnissen, gewählt worden. Daneben wurden auch Salben- und Bäderapplikationen verabfolgt, die therapeutisch bei rheumatischen Erkrankungen empfohlen werden. Diese Versuche geben gleichzeitig einen Hinweis auf die kutane bzw. perkutane Wirksamkeit der Substanzen.

Versuchsobjekte waren in erster Linie intakte männliche weiße Ratten, daneben aber auch gesunde Versuchspersonen, um die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf die Verhältnisse beim Menschen zu demonstrieren.

Die Dosen der Versuchssubstanzen waren in Anlehnung an in anderweitigen pharmakologischen Untersuchungen oder therapeutisch verwendeten Substanzmengen festgelegt worden. Teilweise wurden die Versuche mit verschiedenen Dosen der gleichen Substanz vorgenommen, um die geringste wirksame Dosis zu ermitteln. Diese Feststellungen waren unter anderem interessant, um Vergleichsgrößen für die bei kutaner Anwendung wirksamen Mengen zu erhalten.

Die Angaben über Dosierung, Applikationsart und evtl. -dauer, Zeitpunkte der Bestimmung nach Applikation, Anzahl der Versuchstiere, Versuchsergebnisse in Mittelwerten und Mittelwertsdifferenzen über dem Ausgangswert sowie über die statistische Sicherung

gehen aus den jeweiligen Tabellen hervor.

Den zur Veranschaulichung der wichtigsten Ergebnisse beigefügten Abbildungen sind die als wesentlich anzusehenden Mittelwertsdifferenzen zu den betreffenden Versuchszeiten zugrundegelegt.

a) Salicylate

Es liegen Ergebnisse über die Beeinflussung des Farbstoff-Hyaluronidase-Spreadings durch Natriumsalicylat ^{1, 2} und Acetylsalicylsäure ³ (letztere wegen ihrer schlechten Löslichkeit in 1%iger Na-Bicarbonat-Lösung) sowie durch ein "Depotsalicylat" (Tetra-hydro-1,4-Oxacin-salicyl) ² subkutan bei Ratten, ferner durch Salicylsäure als Badeapplikation bei Ratten ⁴ und Menschen ⁵, sowie als Salbenapplikation bei Ratten ⁶, vor.

Die Versuchsanordnungen und die Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind in den Tabellen 1 - 5 sowie auszugsweise in den Abbildungen 2 - 4 aufgezeichnet.

-Substanz -Dosis	Versuchs- Appli- kation	-zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Natrium- salicylat 500 mg/kg	s.c.	20'	4	130	135	+ 5	-	251	249	- 2	-
		30'	4	156	147	- 9	-	283	238	-45	1%
		40'	4	130	135	+ 5	-	251	218	-33	1%
		50'	4	156	147	- 9	-	283	236	-47	1%
		60'	3	149	143	- 6	-	271	240	-31	1%
		80'	3	149	148	- 1	-	271	250	-21	-
Natrium- salicylat 150 mg/kg	s.c.	20'	6	112	118	+ 6	-	193	174	-19	0,1%
		30'	6	97	91	- 6	-	160	143	-17	0,1%
		40'	6	112	103	- 9	-	193	145	-48	0,1%
		50'	6	97	86	-11	5%	160	132	-28	0,1%
		60'	6	111	109	- 2	-	190	159	-31	0,1%
		80'	6	111	102	- 9	-	190	145	-45	0,1%
Natrium- salicylat 75 mg/kg	s.c.	20'	6	98	93	- 5	-	166	149	-17	0,1%
		30'	6	96	93	- 3	-	164	154	-10	0,1%
		40'	6	98	90	- 8	-	166	142	-24	0,1%
		50'	6	96	88	- 8	5%	164	146	-18	0,1%
		60'	6	85	82	- 3	-	156	140	-16	1%
		80'	6	85	83	- 2	-	156	142	-14	1%
Natrium- salicylat 50 mg /kg	s.c.	20'	6	85	87	+ 2	-	161	147	-14	1%
		30'	6	94	101	+ 7	-	153	147	- 6	-
		40'	6	85	80	- 5	-	161	131	-30	0,1%
		50'	6	94	90	- 4	-	153	144	- 9	-
		60'	6	93	90	- 3	-	160	146	-14	1%
		80'	6	93	88	- 5	-	160	143	-17	1%
Natrium- salicylat 10 mg/kg	s.c.	20'	6	115	113	- 2	-	187	185	- 2	-
		30'	6	110	102	- 8	-	164	154	-10	5%
		40'	6	115	104	-11	-	187	175	-12	5%
		50'	6	110	108	- 2	-	164	168	+ 4	-
		60'	6	115	116	+ 1	-	191	184	- 7	-
		80'	6	115	111	- 4	-	191	191	0	-

T a b e l l e 1

Einfluß von Na-Salicylat bei s.c.-Applikation in verschiedenen Dosierungen
auf das Farbstoff- und Farbstoff+Hyaluronidase-Spreading bei intakten
Ratten (nach B o t h n e r ¹⁾)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Acetyl- salicyl- säure 500mg/kg	s.c.	40'	7	143	-	-	-	249	208	-41	2%
Salicyl- säure	250 mg	40'	6	113	108	- 5	-	208	189	-19	1%
2 g/100 g	Salbe	80'	6	113	110	- 3	-	208	172	-36	0,1%
Salben- grundlage	pro	120'	6	114	108	- 6	-	210	175	-35	0,1%
	Tier	160'	6	114	103	-11	5%	210	157	-53	0,1%
Salicyl- säure	Bade- appli- kation	10'	6	123	118	- 5	-	194	161	-33	1%
		20'	6	123	121	- 2	-	194	141	-53	1%
		30'	6	140	135	- 5	-	206	171	-35	1%
2,5g/10 l	30'	40'	6	140	135	- 5	-	206	160	-46	1%
Wasser	37°C	60'	6	128	129	+ 1	-	211	201	-10	1%
		90'	6	128	124	- 4	5%	211	171	-40	1%

T a b e l l e 2

Einfluß der Acetylsalicylsäure und der Salicylsäure auf das Farbstoff-
und Farbstoff+Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten bei parentera-
ler und kutaner Applikation (nach J a n k o w s k i ³, G a b l e r ⁶
und L u t z ⁴)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Salicyl- säure 25g/100 l Wasser	Bade- applik. 37° C	0	4	72	71	- 1	-	125	90	-35	0,1%
		15'	4	72	71	- 1	-	125	88	-37	0,1%
		30'	4	72	73	+ 1	-	125	90	-35	0,1%
		45'	4	72	73	+ 1	-	125	102	-23	0,1%
		60'	4	72	72	0	-	125	110	-15	0,1%
		75'	4	72	72	0	-	125	118	- 7	0,1%
		90'	4	72	73	+ 1	-	125	122	- 3	5%

T a b e l l e 3

Einfluß der Salicylsäure als Badeapplikation auf das Farbstoff- und
Farbstoff+Hyaluronidase-Spreading beim Menschen
(nach W i n d s h e i m e r ⁵)

Versuchs-			N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
Substanz Dosis	Appli- kation	Zeit nach Applik.		vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Depot- sali- cylat 72,4 mg/ 100 g	s.c.	10'	5	141	157	+16	-	216	217	+ 1	
		20'	5	119	121	+ 2	-	217	192	-25	1%
		30'	5	141	145	+ 4	-	216	190	-26	5%
		40'	5	119	113	- 6	-	217	143	-74	1%
		60'	5	125	124	- 1	-	196	165	-31	1%
		70'	5	149	143	- 6	-	203	168	-35	1%
		80'	5	125	124	- 1	-	196	154	-42	1%
		90'	5	149	134	-15	-	203	163	-40	1%
		100'	5	120	145	+25	1%	193	191	- 2	-
		120'	5	120	134	+14	-	193	176	-17	5%
		140'	4	146	148	+ 2	-	213	165	-48	1%
		160'	4	146	135	-11	-	213	164	-49	1%
		180'	6	123	134	+11	5%	201	162	-39	1%
		240'	6	123	127	+ 4	-	201	155	-46	1%
		1 Tag	5	136	144	+ 8	-	199	199	0	-
		2 Tage	4	136	143	+ 7	-	208	201	- 7	-
		3 Tage	5	141	139	- 2	-	200	186	-14	-
		5 Tage	5	131	119	-12	-	179	165	-14	-
		7 Tage	4	133	126	- 7	-	193	176	-17	-
		9 Tage	4	141	116	-25	5%	213	179	-34	5%

T a b e l l e 4

Einfluß von Depotsalicylat auf das Farbstoff- und Farbstoff+Hyaluronidase-Spreading über 9 Tage nach s.c. Applikation bei intakten Ratten (nach S c h u l e r ²)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Natrium- sali- cylat 50 mg/ 100 g	s.c.	10'	5	106	113	+ 7	-	186	166	-20	5%
		20'	5	124	132	+ 8	5%	206	180	-26	-
		30'	5	106	106	0	-	186	148	-38	1%
		40'	5	124	116	- 8	-	206	145	-61	1%
		60'	5	118	130	+12	-	209	159	-50	1%
		70'	5	113	130	+17	-	195	171	-24	5%
		80'	5	118	125	+ 7	-	209	159	-50	1%
		90'	5	113	114	+ 1	-	195	163	-32	5%
		100'	5	145	129	-16	-	235	191	-44	1%
		120'	5	145	121	-24	-	235	182	-53	1%
		140'	4	130	124	- 6	-	195	154	-41	1%
		160'	4	130	128	- 2	-	195	160	-35	1%
		180'	6	128	128	0	-	209	171	-38	1%
		240'	6	128	129	+ 1	-	209	157	-52	1%
		1 Tag	5	131	125	- 6	-	216	193	-23	-
		2 Tage	4	134	151	+17	-	205	201	- 4	-
		3 Tage	5	139	135	- 4	-	198	195	- 3	-
		5 Tage	5	127	136	+ 9	-	201	190	-11	-
		7 Tage	4	126	138	+12	-	203	188	-15	-
		9 Tage	4	134	123	-11	-	213	204	- 9	-

T a b e l l e 5

Einfluß von Natrium-Salicylat auf das Farbstoff- und Farbstoff+Hyaluronidase-Spreading über 9 Tage nach s.c. Applikation bei intakten Ratten (nach S c h u l e r ²⁾)

mm²

+10

+40

F

0.1

0

-10

-20

-30

-40

-50

-60

H I

ml/w

100

0.8

60

40

20

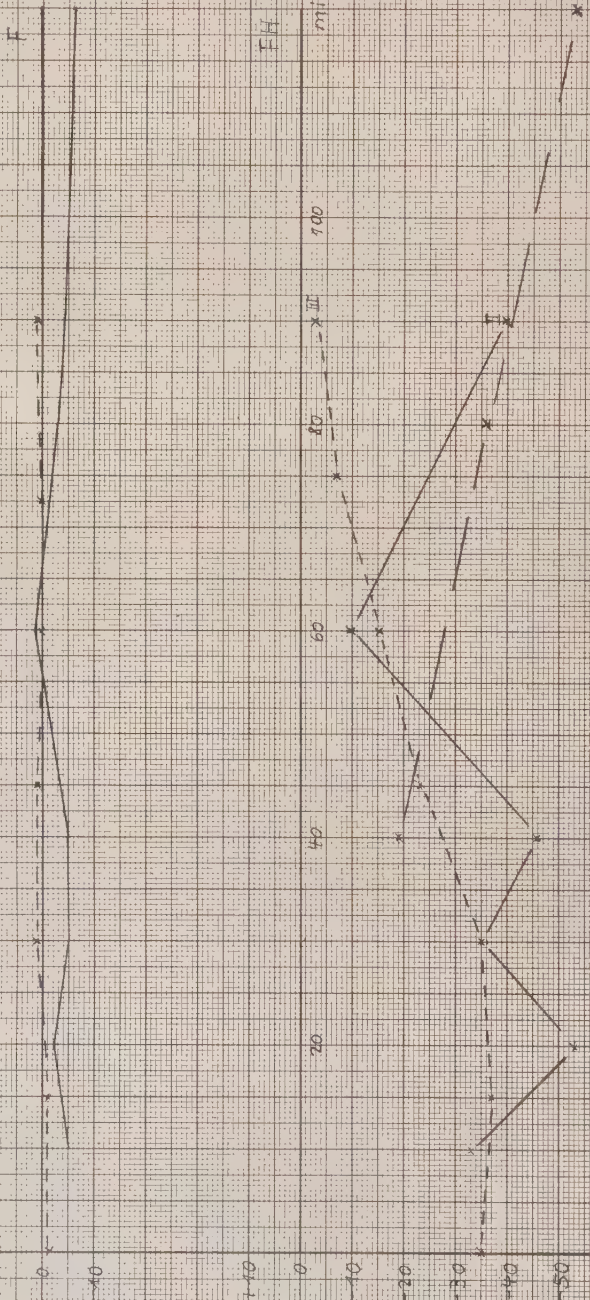
I *

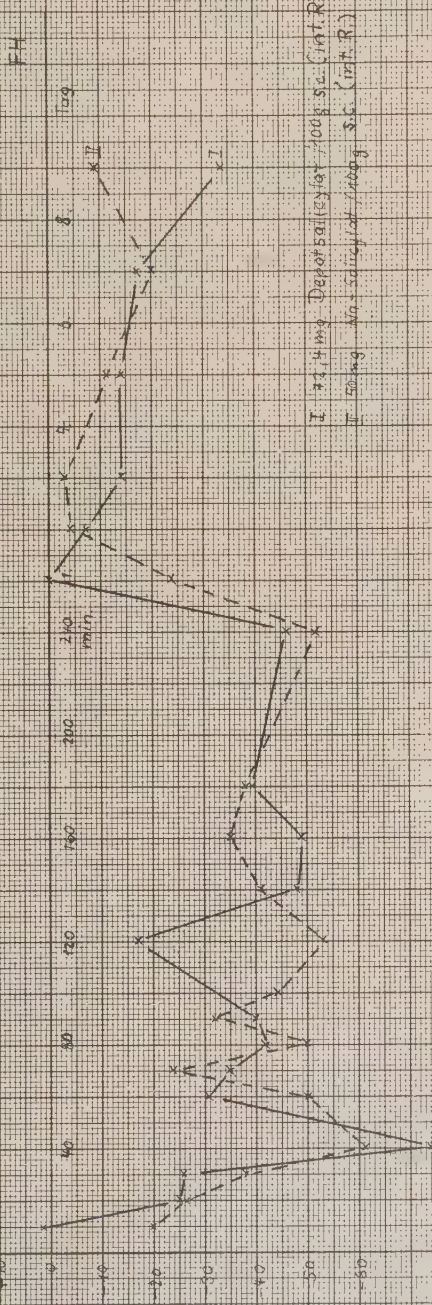
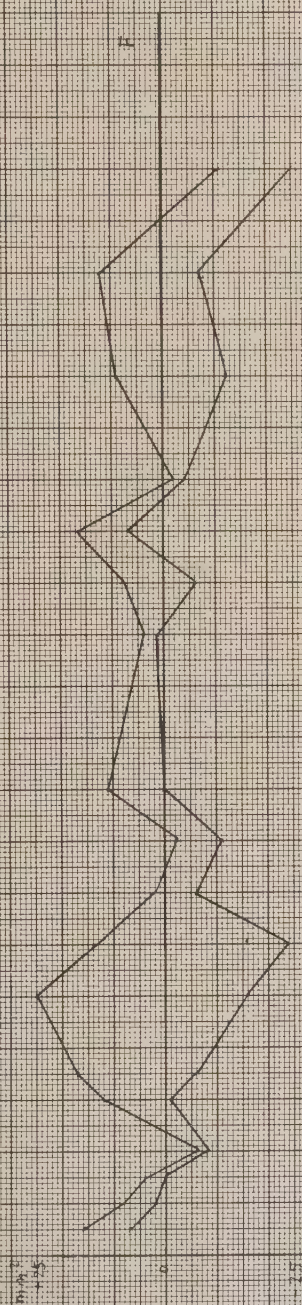
I 20 Salicylsäure / 100g Salbe (int R)

II 2.5g Salicylsäure / 100 Wasser (Badeappl.) mit R

III 2.5g Salicylsäure / 100g Wasser (Mensch) Badeappl.

Abb 2





I 2.4 mg Depo-Bol (100 mg sc. (int. R))
II 2.0 mg No. 50 (100 mg sc. (int. R))

Abb 3

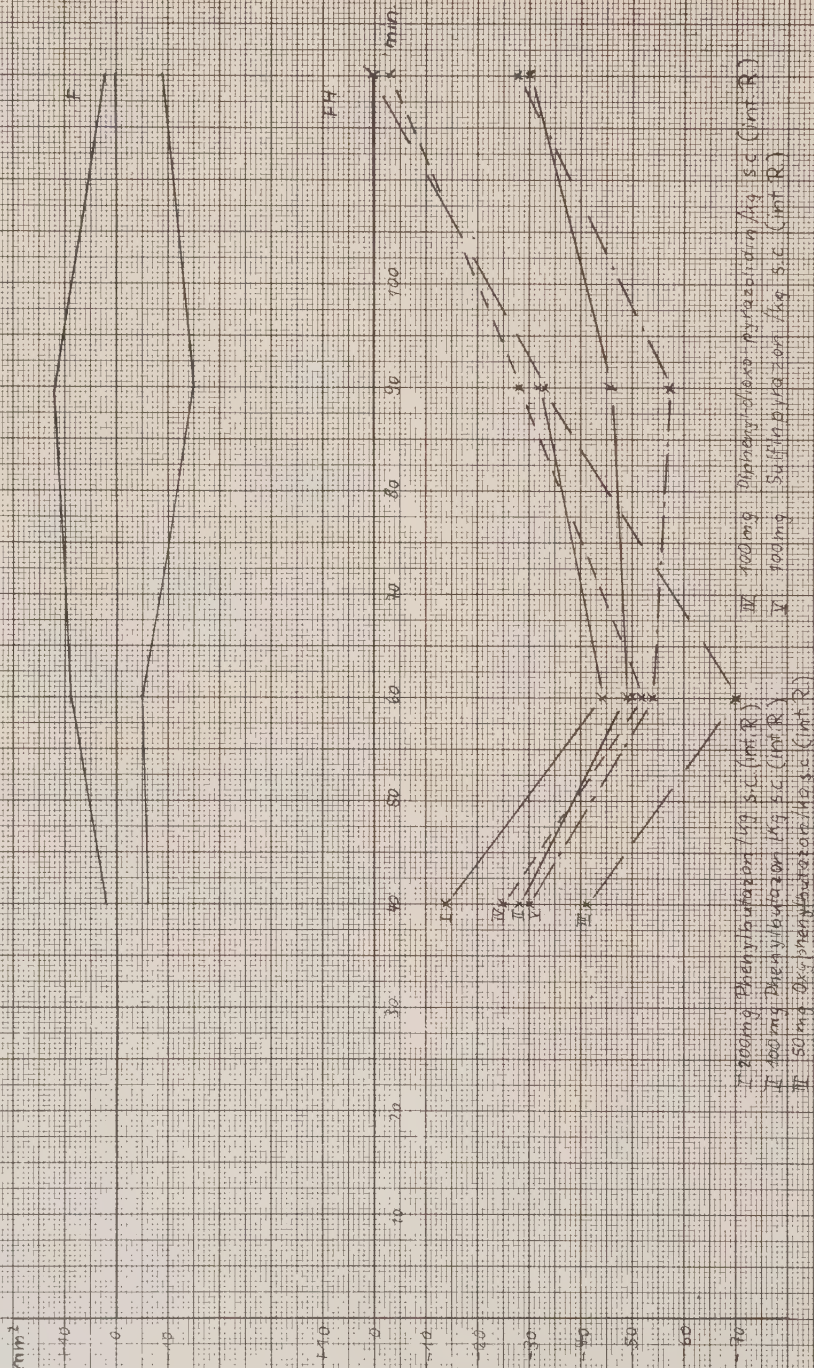


Abb 4

b) Pyrazolonkörper

Untersuchungen waren mit Phenylbutazon (1,2-Diphenyl-3,5-dioxo-4-n-butyl-pyrazolidin) und mehreren seiner Derivate ^{7, 8, 9} wie

1-Phenyl-2-(p-hydroxyphenyl)-3,5-dioxo-4-n-butyl-pyrazolidin (Oxyphenbutazon, p-Hydroxyphenylbutazon (Versuchsbezeichnung G 27202)),

1,2-Diphenyl-3,5-dioxo-4-(2'-phenyl-thio-äthyl)-pyrazolidin (G 25671)

1,2-Diphenyl-3,5-dioxo-4-(2'-phenyl-sulfinyl-äthyl)-pyrazolidin (Sulfinpyrazon, G 28315)

1,2-Diphenyl-3,5-dioxo-4-isopropyl-pyrazolidin (G13838)

1-Phenyl-2-p-nitrophenyl-3,5-dioxo-4-n-butyl-pyrazolidin (G 28234)

sowie dem

Nikotinsäureamido-phenyldimethylpyrazolon (Nicopyron) ¹⁰,

ferner mit einer im Vergleich zum Phenylbutazon (Diphenylbutazon) als ein Monophenylbutazon zu bezeichnenden Substanz

1-Phenyl-3,5-dioxo-4-n-butyl-pyrazolidin ^{11, 12}

s.c. bzw. i.p. am Tier, das Monophenylbutazon auch i.m. am Menschen, durchgeführt worden. Die spezielle Versuchsanordnung und die Ergebnisse dieser Versuchsreihe gehen aus den Tabellen 6-10 sowie aus den Abbildungen 5-8 hervor.

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeitnach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Phenyl- butazon	s.c.	40'	10	107	109	+ 2	-	183	169	-14	-
200mg/kg		60'	10	109	104	- 5	-	177	133	-44	1%
		90'	5	92	104	+12	-	192	160	-32	5%
G 13871	s.c.	40'	5	147	143	- 4	-	243	215	-28	1%
Phenyl- butazon		60'	5	147	147	0	-	243	194	-49	1%
100mg/kg		90'	5	154	139	-15	1%	216	170	-46	1%
		120'	5	154	145	- 9	-	216	186	-30	1%
G 27202	s.c.	40'	5	164	158	- 6	-	254	213	-41	1%
50 mg/kg		60'	5	164	159	- 5	-	254	184	-70	1%
		90'	5	147	143	- 4	-	232	209	-33	1%
		120'	5	147	149	+ 2	-	232	232	0	-
G 25671	s.c.	40'	5	149	145	- 4	-	239	214	-25	1%
100mg/kg		60'	5	149	158	+ 9	-	239	187	-52	1%
		90'	5	159	158	- 1	-	252	224	-28	1%
		120'	5	159	156	- 3	-	252	249	- 3	-
G 28315	s.c.	40'	5	148	145	- 3	-	232	202	-30	1%
100mg/kg		60'	5	148	147	- 1	-	232	178	-54	1%
		90'	5	152	139	-13	-	245	188	-57	1%
		120'	5	152	145	- 7	-	245	217	-28	1%
G 13838	s.c.	40'	7	155	155	0	-	240	199	-41	1%
200mg/kg		60'	7	155	151	- 4	-	240	190	-50	1%
		90'	6	141	140	- 1	-	202	184	-18	1%
		120'	6	141	136	- 5	-	202	209	+ 7	-
G 28234	s.c.	40'	5	150	150	0	-	245	213	-32	1%
150mg/kg		60'	5	150	146	- 4	-	245	185	-60	1%
		90'	5	141	138	- 3	-	225	199	-26	1%
		120'	5	141	143	+ 2	-	225	222	- 3	-

T a b e l l e 6

Einfluß des Phenylbutazons und verschiedener seiner Derivate bei s.c. Applikation auf das Farbstoff- und Farbstoff+Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten (nach H a r t m a n n ⁷ und S c h o l z e ⁸)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Phenyl- butazon 100mg/kg	i.p.	40'	4	147	143	- 4	-	243	215	-28	0,1%
		60'	4	147	147	0	-	243	194	-49	0,1%
		90'	4	154	139	-15	1%	216	170	-46	0,1%
		120'	4	154	145	- 9	5%	216	186	-30	0,1%
		150'	5	106	107	+ 1	-	178	158	-20	1%
		180'	5	106	96	-10	-	178	166	-12	-
Phenyl- butazon 75 mg/kg	i.p.	40'	5	113	119	+ 6	-	183	168	-15	5%
		60'	5	113	115	+ 2	-	183	154	-29	0,1%
		90'	5	112	111	- 1	-	180	160	-20	0,1%
		120'	5	112	106	- 6	-	180	158	-22	0,1%
		150'	5	110	107	- 3	-	198	181	-17	5%
		180'	5	110	105	- 5	-	198	180	-18	5%
Phenyl- butazon 50 mg/kg		40'	5	88	90	+ 2	-	165	153	-12	1%
		60'	5	88	93	+ 3	-	165	146	-19	0,1%
		90'	5	87	86	- 1	-	170	154	-16	1%
		120'	5	87	86	- 1	-	170	144	-26	0,1%
		150'	5	119	109	-10	-	188	181	- 7	-
		180'	5	119	109	-10	-	188	178	-10	5%
Phenyl- butazon 10 mg/kg		40'	5	92	90	- 2	-	162	148	-14	-
		60'	5	92	99	+ 7	-	162	160	- 2	-
		90'	5	93	95	+ 2	-	153	153	0	-
		120'	5	93	95	+ 2	-	153	151	- 2	-
		150'	5	113	105	- 8	-	173	163	-10	-
		180'	5	113	113	0	-	173	183	+10	-

T a b e l l e 7

Einfluß des Phenylbutazons in verschiedener Dosierung bei i.p. Applikation auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten (nach N a t h ⁹)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Nicopyron 20 mg/kg in 0,5cm ³	i.p.	15'	5	116	107	- 9	1%	197	176	-21	1%
		30'	5	112	101	-11	1%	196	160	-36	1%
		45'	5	116	97	-19	1%	197	156	-41	1%
		60'	5	112	91	-21	1%	196	112	-84	1%
Tylose- schleim		90'	5	105	90	-15	1%	190	106	-84	1%
		120'	5	105	102	- 3	-	190	153	-37	1%

T a b e l l e 8

Einfluß des Nicopyrons bei i.p. Applikation auf das Farbstoff- und Farbstoff+Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten (nach

Mathies, Batisweiler, Kreiselmeier und Will¹⁰⁾

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Mono- phenyl- butazon 100mg/kg in 5% Lösung	i.p.	40'	6	90	92	+ 2	-	186	144	-42	0,1%
		60'	6	97	90	- 7	-	183	133	-50	0,1%
		90'	6	90	98	+ 8	-	186	151	-35	0,1%
		120'	6	97	96	0	-	183	138	-44	0,1%

T a b e l l e 9

Einfluß des Monophenylbutazons bei i.p. Applikation auf das Farbstoff- und Farbstoff+Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten (nach

Mathies, Will und Schüle¹¹⁾

Substanz- Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Mono- phenyl- butazon 4 mg/kg in 10%ig. Lösung	i.m.	20'	4	70	50	-20	0,1%	103	74	-29	0,1%
		40'	4	70	59	-11	5%	103	84	-19	5%
		60'	4	70	56	-14	1%	103	80	-23	1%
		70'	4	70	78	+ 8	-	103	88	-15	-
		80'	4	70	70	0	-	103	68	-35	0,1%
		100'	4	70	63	- 7	-	103	60	-43	0,1%
		120'	4	70	66	- 6	-	103	69	-34	0,1%
		130'	4	49	46	- 3	-	71	59	-12	5%
		140'	4	49	44	- 5	-	71	65	- 6	-
		150'	4	49	56	+ 7	-	71	65	- 6	-
		170'	4	49	49	0	-	71	65	- 6	-
		180'	4	49	49	0	-	71	65	- 6	-
		200'	4	49	51	+ 2	-	71	70	- 1	-

T a b e l l e 10

Einfluß von Monophenylbutazon bei i. m. Applikation auf das Farbstoff-
und Farbstoff+Hyaluronidase-Spreading beim Menschen

(nach Mathies ¹²⁾)

nmL

160

0

-20

-20

-30

-40

-50

-60

-70

-35-

min

100

80

60

40

20

0

40

60

80

100

120

140

160

180

200

220

240

260

280

300

320

340

360

380

400

420

440

460

480

500

520

540

560

580

600

620

640

660

680

700

720

740

760

780

800

820

840

860

880

900

920

940

960

980

1000

1020

1040

1060

1080

1100

1120

1140

1160

1180

1200

1220

1240

1260

1280

1300

1320

1340

1360

1380

1400

1420

1440

1460

1480

1500

1520

1540

1560

1580

1600

1620

1640

1660

1680

1700

1720

1740

1760

1780

1800

1820

1840

1860

1880

1900

1920

1940

1960

1980

2000

2020

2040

2060

2080

2100

2120

2140

2160

2180

2200

2220

2240

2260

2280

2300

2320

2340

2360

2380

2400

2420

2440

2460

2480

2500

2520

2540

2560

2580

2600

2620

2640

2660

2680

2700

2720

2740

2760

2780

2800

2820

2840

2860

2880

2900

2920

2940

2960

2980

3000

3020

3040

3060

3080

3100

3120

3140

3160

3180

3200

3220

3240

3260

3280

3300

3320

3340

3360

3380

3400

3420

3440

3460

3480

3500

3520

3540

3560

3580

3600

3620

3640

3660

3680

3700

3720

3740

3760

3780

3800

3820

3840

3860

3880

3900

3920

3940

3960

3980

4000

4020

4040

4060

4080

4100

4120

4140

4160

4180

4200

4220

4240

4260

4280

4300

4320

4340

4360

4380

4400

4420

4440

4460

4480

4500

4520

4540

4560

4580

4600

4620

4640

4660

4680

4700

4720

4740

4760

4780

4800

4820

4840

4860

4880

4900

4920

4940

4960

4980

5000

5020

5040

5060

5080

5100

5120

5140

5160

5180

5200

5220

5240

5260

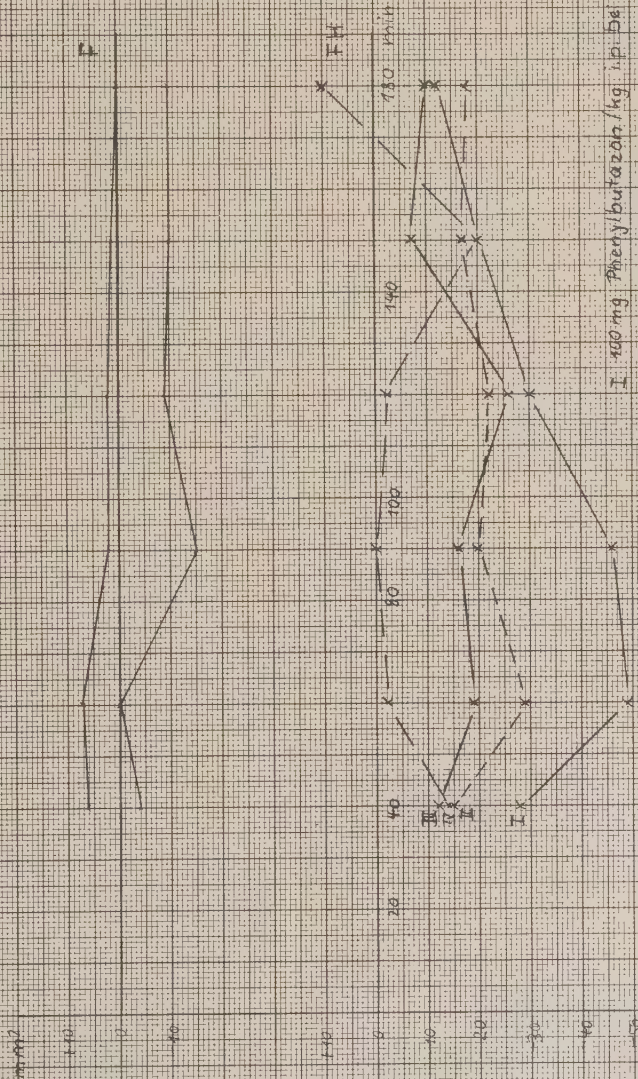
5280

5300

5320

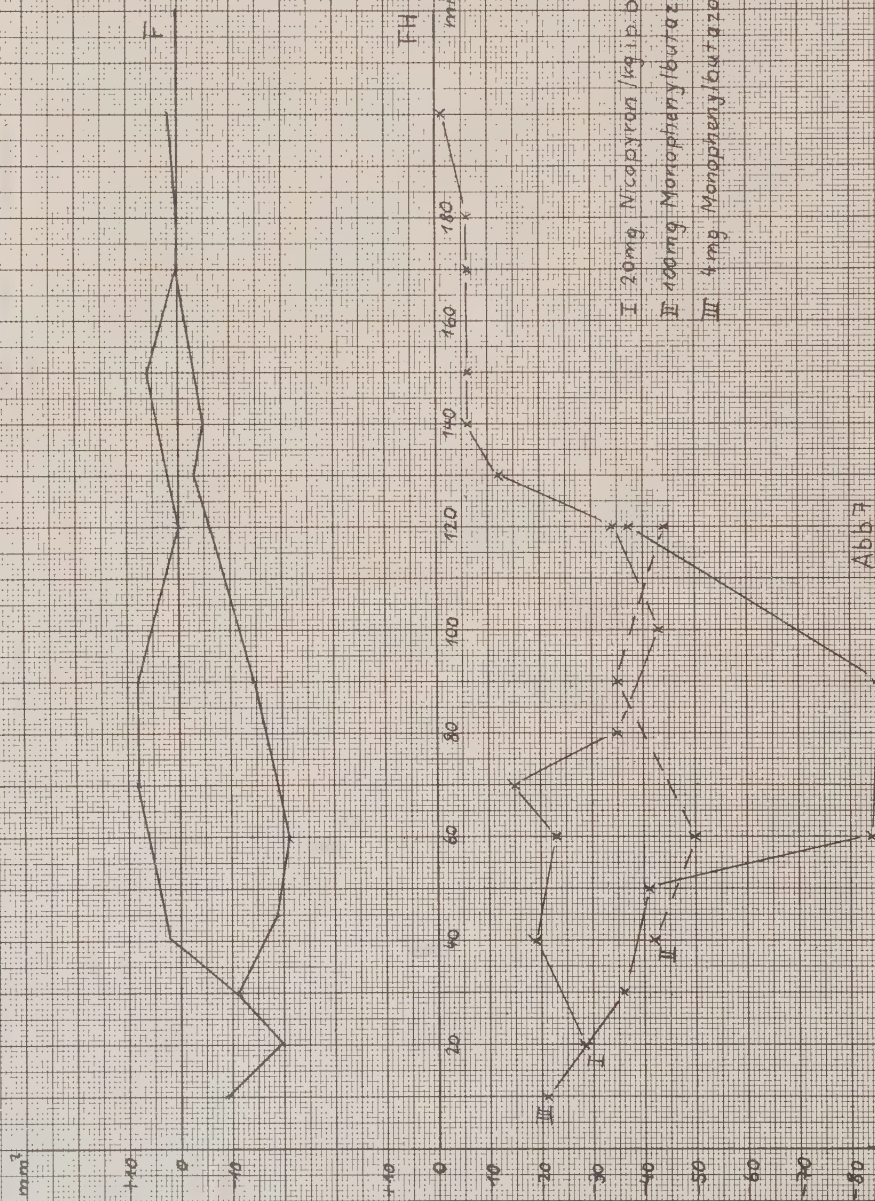
5340

5360



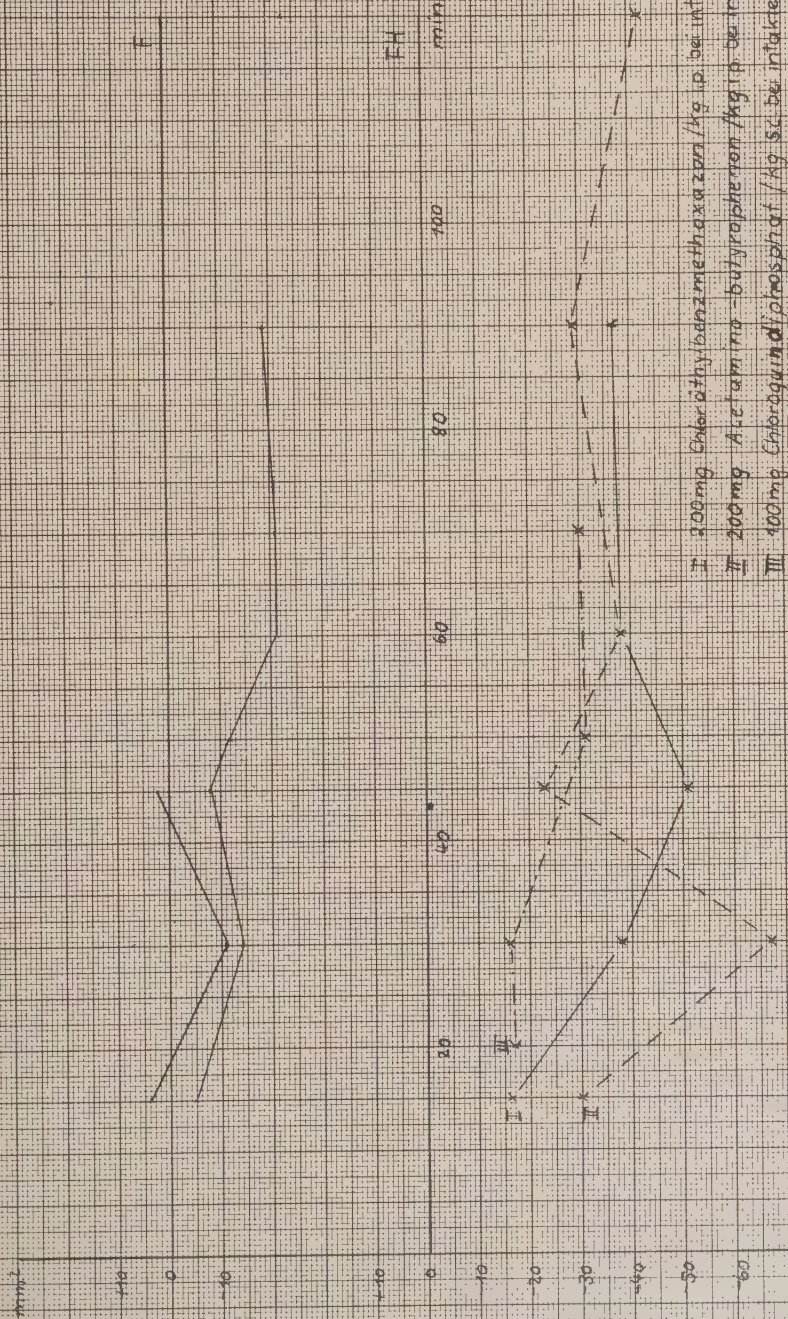
- I 100 mg Phenylbutazon/kg i.p. bei int. Ratten
- II 75 mg Phenylbutazon/kg i.p. bei int. Ratten
- III 50 mg Phenylbutazon/kg i.p. bei int. Ratten
- IV 40 mg Phenylbutazon/kg i.p. bei int. Ratten

Abb. 6



I 20mg Nicopyron/kg i.p. bei intakt. Ratten
 II 100mg Monophenylbutazon/kg i.p. (int. R.)
 III 4mg Monophenylbutazon/kg (Mensch) i.m.

Abb 7



I 300mg Chloräthylbenzomethoxiazon/kg p. bei intakt R
 II 200mg Acetaminobutylpropiersäure/kg p. bei intakt R
 III 100mg Enorgundiprophat/kg p. bei intakt R

Abb 8

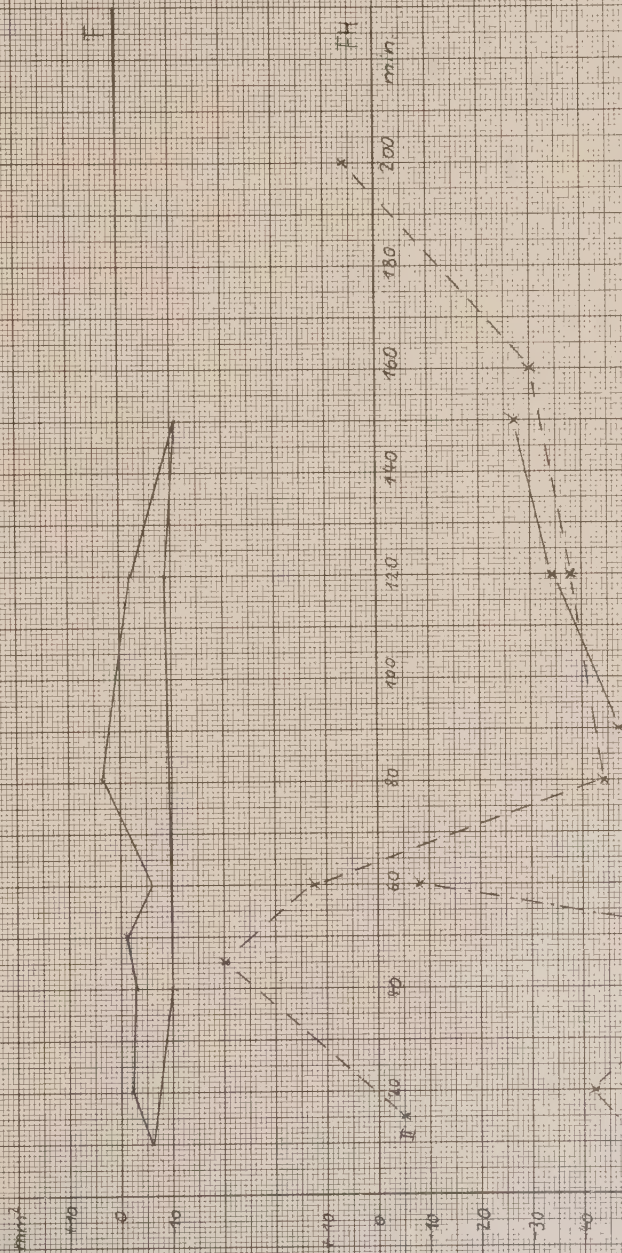
c) Chloraethylbenzmethoxazon

Die Wirkung dieser Substanz auf das Hyaluronidase-Spreading war unter den in Tabelle 11 angeführten Versuchsbedingungen geprüft worden ¹³. Siehe auch Abbildung 9.

Substanz Dosis	Versuchs-		N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
	Appli- kation	Zeit nach Applik.		vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Chlor-		15'	4	84	79	- 5	-	198	182	-16	-
aethyl-		30'	4	84	70	-14	-	198	160	-38	1%
benzmeth-		45'	4	71	73	+ 2	-	217	166	-51	1%
oxazon	i.p.	60'	4	71	-	-	-	217	179	-38	1%
in		90'	4	71	-	-	-	217	180	-37	5%
Tylose-											
schleim											
200mg/kg											

T a b e l l e 11

Einfluß von Chloraethylbenzmethoxazon bei i.p. Applikation auf das Farbstoff- und Farbstoff+Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten
(nach v. W e r t h e r ¹³)



I 2g Forapin /kg ic bei intakten Ratten
 II 25mg Prednisolon /kg ix bei intakten Ratten
 III 500g Oxstransulfat /kg sic bei intakten Ratten

Abb 9

d) 2-(-Methoxyäthoxy)-5-acetamino-butyrophenon (Ap 769)

Dieses aromatische Oxyaminoketon wurde in 1%igem Tyloseschleim suspendiert und den Tieren subkutan injiziert ¹⁴. Die genaue Versuchsanordnung und der Umfang der Wirkung dieser Substanz auf das Hyaluronidase-Spreading ist aus Tabelle 12 ersichtlich. Siehe auch Abbildung 9.

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Ap 769 in Tylose- schleim 200mg/kg	i.p.	15'	8	150	154	+ 4	-	266	236	-30	1%
		30'	8	150	138	-12	5%	266	199	-67	0,1%
		45'	8	159	151	- 8	-	239	216	-23	5%
		60'	8	159	138	-21	1%	239	201	-38	5%
		90'	8	163	144	-19	5%	259	230	-29	0,1%
		120'	8	163	140	-23	5%	259	217	-42	0,1%

T a b e l l e 12

Einfluß von 2-(-Methoxyäthoxy)-5-acetamino-butyrophenon bei i.p. Applikation auf das Farbstoff- und Farbstoff+Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten (nach B a t i s w e i l e r ¹⁴)

e) Chloroquin-diphosphat (Resochin)

In dieser Versuchsreihe war die hyaluronidasehemmende Wirkung von Chloroquin untersucht worden ¹⁵. Einzelheiten der Versuchsanordnung sowie Ergebnisse dieser Untersuchung gehen aus Tabelle 13 und Abbildung 9 hervor.

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Chloro- quin 100mg/kg	s.c.	20'	6	150	145	- 5	-	229	212	-17	1%
		30'	6	145	134	-11	1%	209	193	-16	1%
		50'	6	150	138	-12	-	229	198	-31	0,1%
		70'	6	145	124	-21	1%	209	179	-30	0,1%

T a b e l l e 13

Einfluß von Chloroquin bei s.c. Applikation auf das Farbstoff- und Farbstoff+Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten (nach W i l l ¹⁵)

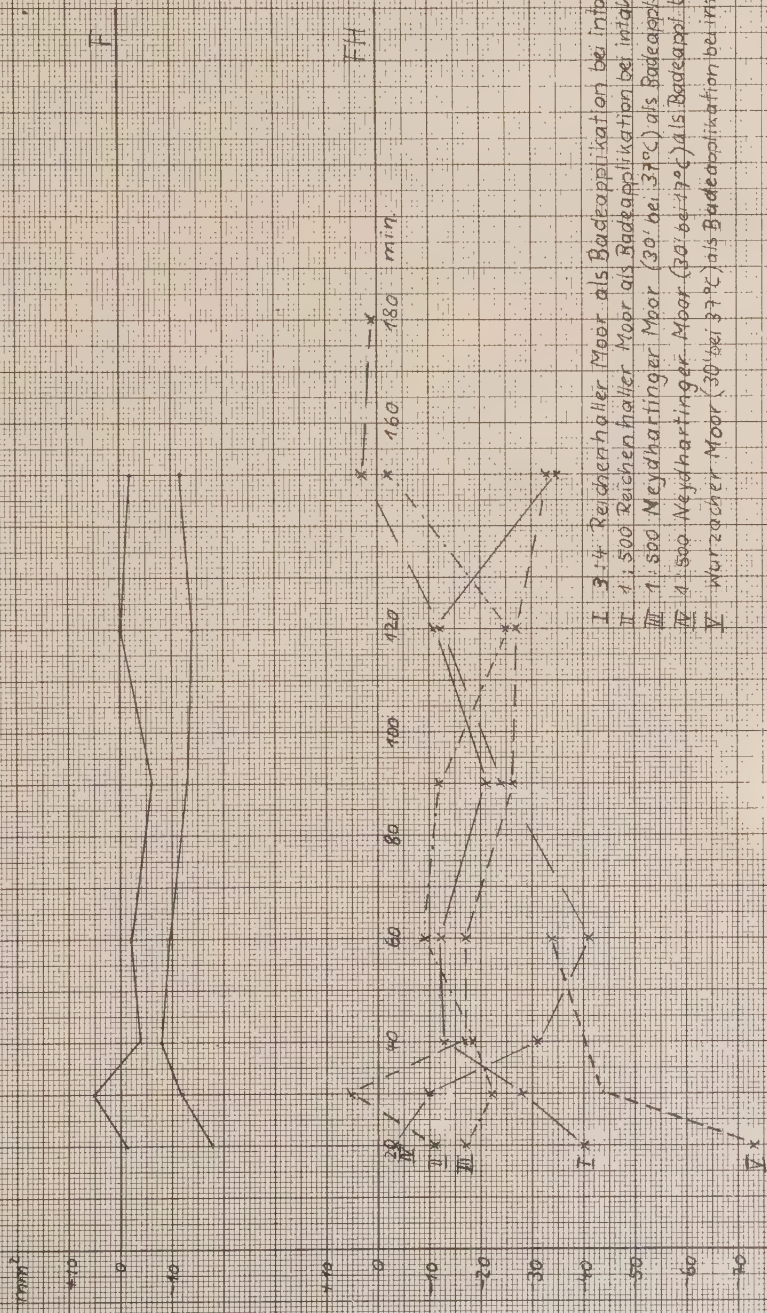
f) Bienengift

Es wurden die Auswirkungen des Forapin (Bienengift) auf das Hyaluronidase-Spreading geprüft ¹⁶ und die Ergebnisse in Tabelle 14 und Abbildung 10 dargelegt. (2 g Forapin entsprechen 0,6 Bienengifteinheiten)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Forapin 2 g/kg	i.c.	20'	6	120	118	- 2	-	174	126	-48	0,1%
		40'	6	120	117	- 3	-	174	104	-70	0,1%
		90'	6	126	121	- 5	-	191	144	-47	0,1%
		120'	6	126	124	- 2	-	191	159	-32	0,1%
		120'	6	126	117	- 9	0,1%	191	157	-34	0,1%
		150'	6	126	115	-11	0,1%	191	164	-27	0,1%

T a b e l l e 14

Einfluß von Forapin bei i.c. Applikation auf das Farbstoff- und Farbstoff+Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten (nach K r o t t ¹⁶)



I 314 Reichenhaller Moor als Badeapplikation bei intakten R.
 II 1.500 Reichenhaller Moor als Badeapplikation bei intakten R.
 III 1.500 Meydharthinger Moor (30' bei 37°C) als Badeappl. b. int. R.
 IV 1.500 Meydharthinger Moor (30' bei 37°C) als Badeappl. b. int. R.
 V Wunzacher Moor (30' bei 37°C) als Badeapplikation bei intakten R.

Abb 10

g) Glucocorticoide

Als Vertreter der Glucocorticoide wurde Prednisolon gewählt und den Tieren i.v. appliziert ¹⁷. Der Einfluß dieser Substanz auf die Hyaluronidaseaktivität unter den gewählten Bedingungen ist aus Tabelle 15 ersichtlich. Siehe auch Abbildung 10.

Substanz Dosis	Versuchs-		N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
	Appli- kation	Zeit nach Applik.		vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Predni- solon 25 mg/kg	i.v.	0'	3	119	120	+ 1	-	205	208	+ 3	-
		15'	3	119	-	-	-	205	200	- 5	-
		45'	3	119	-	-	-	205	235	+30	-
		60'	3	119	-	-	-	205	218	+13	-
		80'	3	112	115	+ 3	-	208	164	-44	1%
		120'	3	112	-	-	-	208	170	-38	2%
		160'	3	112	-	-	-	208	178	-30	5%
		200'	3	112	-	-	-	208	214	+ 6	-

T a b e l l e 15

Einfluß von Prednisolon bei i.v. Applikation auf das Farbstoff- und Farbstoff+Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten (nach

Schlierf ¹⁷⁾

h) Oestrogene

Zur Untersuchung der hyaluronidasehemmenden Wirkung der Oestrogene wurde das Oestrone-sulfat herangezogen¹⁸. Dosis, Applikationsart und Bestimmungszeiten sind aus Tabelle 16 ersichtlich. Sie auch Abbildung 10.

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Oestron- sulfat 50g/kg	s.c.	10'	7	178	172	- 6	-	280	229	-51	1%
		20'	7	182	180	- 2	-	275	233	-42	1%
		30'	7	178	178	0	-	280	277	-53	1%
		40'	7	182	172	-10	-	275	217	-58	1%
		50'	7	178	177	- 1	-	280	215	-65	1%
		60'	7	182	176	- 6	-	275	267	- 8	-

T a b e l l e 16

Einfluß von Oestrone-sulfat bei s.c. Applikation auf das Farbstoff-
und Farbstoff+Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten
(nach G l ü c k¹⁸)

i) Moorbäder

In dieser Versuchsreihe wurden verschiedene Moore in verschiedener Konzentration und bei verschieden langer Einwirkungsdauer zur Anwendung gebracht.

Es handelt sich dabei um die Moore von

Bad Reichenhall ²³

Bad Neydharting ¹⁹

Bad Wurzach ²⁰

ferner um Pela-Moorlauge ²¹ und Huminsäuren ^{4, 5}. Die Art der Anwendung erfolgte jeweils als Badeapplikation, teils am Tier, teils am Menschen. Die spezielle Versuchsanordnung ist aus Tabelle 17-22 und aus Abbildung 11 und 12 zu entnehmen.

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Reichen- haller Moor 3:4 30' bei 37°C	p.c. Bade- appl.	20'	5	129	114	-15	-	192	152	-40	0,5%
		30'	4	126	121	- 5	-	182	154	-28	5%
		40'	5	129	121	- 8	-	175	162	-13	-
		60'	4	124	122	- 2	-	185	173	-12	-
		90'	4	122	114	- 8	-	185	164	-21	-
		120'	5	138	129	- 9	-	202	191	-11	-
		150'	5	138	130	- 8	-	202	167	-35	0,5%
Reichen- haller Moor 1:500 30' bei 37°C	p.c. Bade- appl.	20'	4	127	114	-13	-	183	172	-11	-
		30'	4	127	128	+ 1	-	183	188	+ 5	-
		40'	7	118	114	- 4	-	195	178	-17	-
		60'	7	125	123	- 2	-	188	171	-17	-
		90'	6	135	128	- 7	-	205	179	-26	2,5%
		120'	4	133	129	- 4	-	216	189	-27	5%
		150'	5	137	125	-12	-	226	193	-33	2,5%

T a b e l l e 17

Einfluß von Reichenhaller Moor bei Badeapplikation auf das Farb-
stoff- und Farbstoff+Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten
(nach Mathies und v. Werther ²³⁾)

Substanz Dosis	Versuchs-		N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
	Appli- kation	Zeit nach Applik.		vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Neydhar- tinger Moor 1:500 30' bei 37°C	p.c. Bade- appl.	20'	4	127	109	-18	5%	177	160	-17	2,5%
		30'	5	128	120	- 8	-	189	167	-22	2,5%
		40'	4	128	123	- 5	-	179	161	-18	5%
		60'	4	129	126	- 3	-	175	166	- 9	-
		90'	4	127	114	-13	-	179	167	-12	-
		120'	6	129	115	-14	-	203	178	-25	5%
		150'	5	130	124	- 6	-	205	203	- 2	-
Neydhar- tinger Moor 1:500 30' bei 17°C	p.c. Bade- appl.	20'	4	124	120	- 4	-	226	223	- 3	-
		30'	4	124	129	+ 5	-	226	216	-10	-
		40'	4	139	133	- 6	-	245	214	-31	1%
		60'	4	139	131	- 7	-	245	204	-41	1%
		90'	4	131	125	- 6	-	254	230	-24	2%
		120'	4	131	131	0	-	254	242	-12	-
		150'	4	129	127	- 2	-	222	225	+ 3	-
		180'	4	129	133	+ 4	-	222	223	+ 1	-

T a b e l l e 18

Einfluß von Neydhartinger Moor bei Badeapplikation auf das Farbstoff- und Farbstoff+Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten
(nach L i n g n a u ¹⁹)

Substanz Dosis	Versuchs-		N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
	Appli- kation	Zeit nach Applik.		vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Wurzach.	p.c.	20'	6	124	123	- 1	1%	236	163	-73	1%
Moor	Bade-	30'	6	127	115	-12	1%	208	164	-44	1%
30', 37°	appl.	60'	6	127	118	- 9	5%	224	190	-34	1%

T a b e l l e 19

Einfluß von Wurzacher Moor bei Badeapplikation auf das Farbstoff- und Farbstoff+Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten
(nach M a t h i e s , F u c h s u. H i e k m a n n ²⁰)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Pela-		30'	4	94	86	+ 8	-	200	146	-54	1%
Moor-		40'	4	121	98	-23	-	174	120	-54	1%
lauge	P. c.	90'	4	110	106	- 4	-	171	153	-18	1%
1:500	Bade-	120'	4	102	106	+ 4	-	192	173	-19	5%
30', 37°	appl.	150'	4	124	101	-23	5%	229	171	-58	1%

T a b e l l e 20

Einfluß von Pela-Moorlauge bei Badeapplikation auf das Farbstoff-
und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten
(nach A s c h t i a n y ²¹)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Huminsäure 0,15g/10l 30' bei 37°C		10'	5	123	125	+ 2	-	201	181	-20	1%
		20'	6	138	138	0	-	224	189	-35	1%
		30'	5	123	126	+ 3	-	201	170	-31	1%
		40'	6	138	137	- 1	-	224	176	-48	1%
		60'	6	130	131	+ 1	-	221	214	- 7	1%
		90'	6	130	127	- 3	-	221	174	-47	1%

T a b e l l e 21

Einfluß von Huminsäurebädern bei Badeapplikation auf das Farbstoff-
und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten
(nach L u t z ⁴)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Huminsäure (Na-Hu- minat) 5g/150 l + 5g Netz. 20'		0'	4	71	73	+ 2	-	120	87	-33	0,1%
		15'	4	71	71	0	-	120	84	-36	0,1%
	Bade- appl.	30'	4	71	70	- 1	-	120	91	-29	0,1%
		45'	4	71	70	- 1	-	120	97	-23	0,1%
		60'	4	71	71	0	-	120	105	-15	0,1%
		75'	4	71	72	+ 1	-	120	115	- 5	1%
		90'	4	71	71	0	-	120	121	+ 1	-

T a b e l l e 22

Einfluß von Huminsäurebädern bei Badeapplikation auf das Farbstoff-
und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading beim Menschen
(nach W i n d s h e i m e r ⁵)

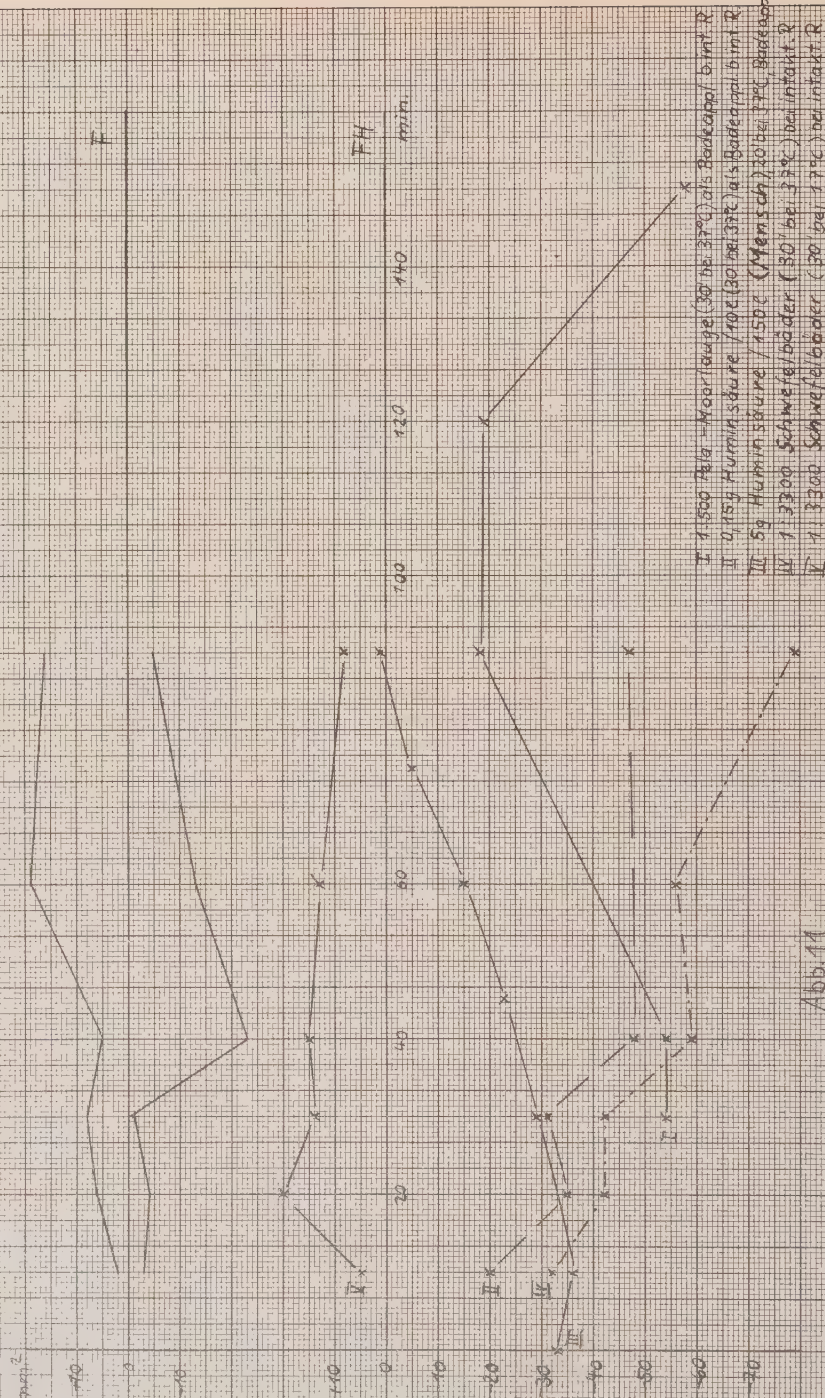
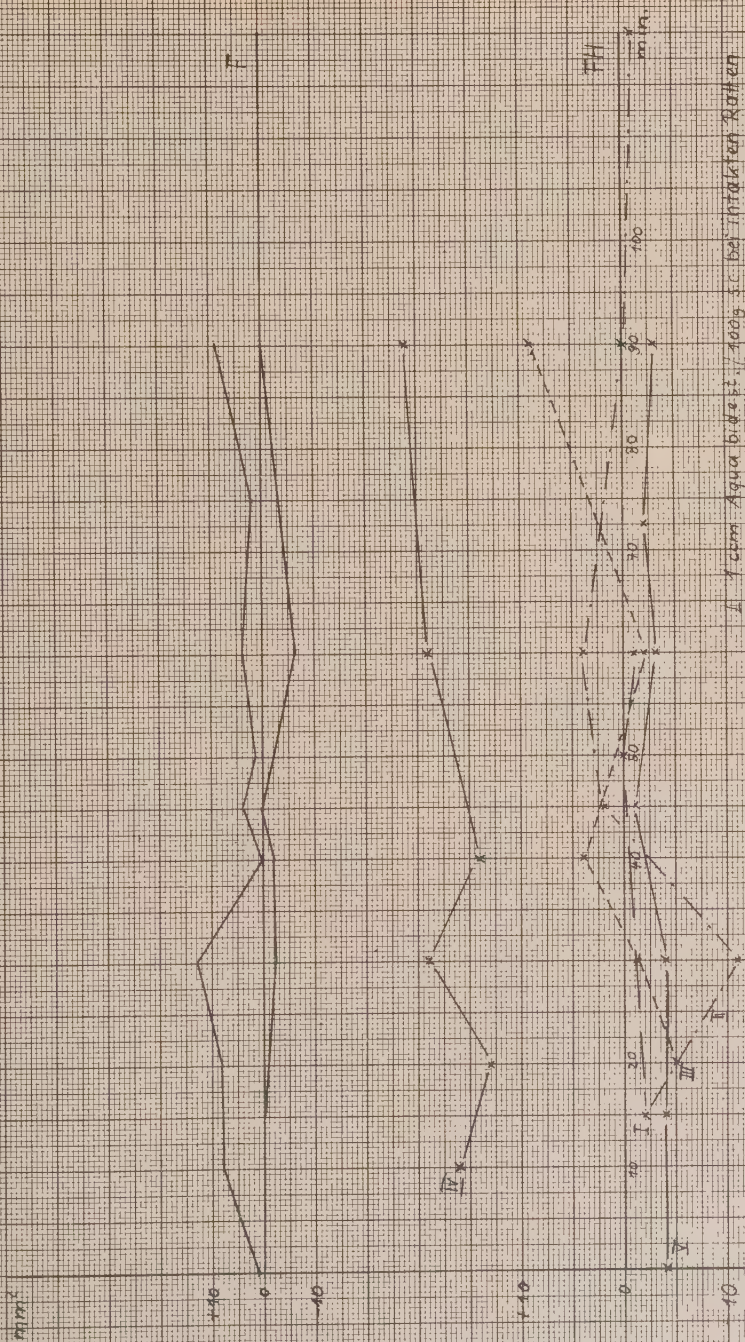


Abb. 11



- I 1 cm Aqua bidest. / 100 g sc bei intakten Ratten
- II 5 cm Tylose schleim / 100 g sp bei intakten Ratten
- III reines Wasser (30° bei 37°C) bei intakten R.
- IV reines Wasser (30° bei 17°C) Badegabel bei intakten R.
- V reines Wasser (20° bei 38°C) b. Menschen als Bad

Abb. 12

k) Schwefelbäder

In dieser Versuchsreihe wurden intakten Tieren unter verschiedenen Versuchsbedingungen Schwefelbäder appliziert und der Einfluß derselben auf die Hyaluronidasewirkung festgestellt ²². Aufschluß über die Ausbreitung der Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel zu den verschiedenen Zeitpunkten gibt Tabelle 23.

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Schwefel- bäder 1:3300 30' bei 37°C	Bade- appl.	10'	5	120	117	- 3	-	196	164	-32	1%
		20'	5	133	129	- 4	-	210	168	-42	1%
		30'	5	120	120	0	-	196	154	-42	1%
		40'	5	133	123	-10	-	210	151	-59	1%
		60'	5	130	117	-13	-	237	181	-56	1%
		90'	5	130	125	- 5	-	237	158	-79	1%
Schwefel- bäder 1:3300 30' bei 17°C	Bade- appl.	10'	5	146	147	+ 1	-	208	213	+ 5	-
		20'	5	145	151	+ 6	-	215	235	+20	1%
		30'	5	146	149	+ 3	-	208	222	+14	-
		40'	5	145	150	+ 5	-	215	230	+15	5%
		60'	5	132	151	+19	-	205	218	+13	-
		90'	5	132	148	+16	-	205	213	+ 8	-

T a b e l l e 23

Einfluß von Schwefelbädern bei Badeapplikation auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten
(nach Gareissen ²²)

1) Leerverversuche

Um festzustellen, ob die in den Versuchen festgestellte Hemmung der Hyaluronidaseaktivität durch die verschiedenen Prüfsubstanzen oder mindest ein Teil des hyaluronidasehemmenden Effektes auf die den Substanzen beigegebenen Lösungsmittel zurückzuführen ist, waren untersucht worden

1. Die Ausbreitung der Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln nach s.c. Injektion von Aqua bidestillata¹⁸. Ergebnisse siehe Tabelle 24.
2. Der Einfluß von Tyloseschleim, i.p. appliziert, auf die Ausbreitung der beiden Quaddeltypen¹⁴. Ergebnisse siehe Tabelle 24.
3. Die Wirkung auf die Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel nach einer Badeapplikation von reinem Wasser unter den bei den Bädern angewandten Versuchsbedingungen beim Tier und beim Menschen^{4, 5, 22}. Ergebnisse siehe Tab. 24 und 25 und Abbildung 13.

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Aqua bidest. 1 ccm/ 100 g	s.c.	15'	5	128	-	-	-	203	201	- 2	-
		50'	4	178	179	+ 1	-	280	280	0	-
		60'	4	125	121	- 4	-	208	207	- 1	-
Tylose- schleim 5 ccm/ 100 g	i.p.	15'	3	159	159	0	-	253	251	- 2	-
		30'	3	159	157	- 2	-	253	242	-11	-
		45'	10	149	153	+ 4	-	261	263	+ 2	-
		60'	10	149	151	+ 2	-	261	265	+ 4	-
		90'	10	143	152	+ 9	-	255	255	0	-
		120'	10	143	150	+ 7	-	255	254	- 1	-
reines Wasser 30' bei 37°C	Bade- appl.	20'	4	120	128	+ 8	-	248	243	- 5	-
		30'	4	120	133	+13	-	248	247	- 1	-
		40'	4	143	141	- 2	-	255	257	+ 4	-
		60'	4	143	137	- 6	-	253	251	- 2	-
		90'	4	137	137	0	-	253	262	+ 9	-
reines Wasser 30' bei 17°C	Bade- appl.	10'	4	143	151	+ 8	-	220	236	+16	1%
		20'	4	144	151	+ 7	-	218	231	+13	-
		30'	4	143	148	+ 5	-	220	239	+19	1%
		40'	4	144	144	0	-	218	232	+14	-
		60'	4	137	141	+ 4	-	204	223	+19	5%
		90'	4	137	139	+ 2	-	204	225	+21	5%

T a b e l l e 24

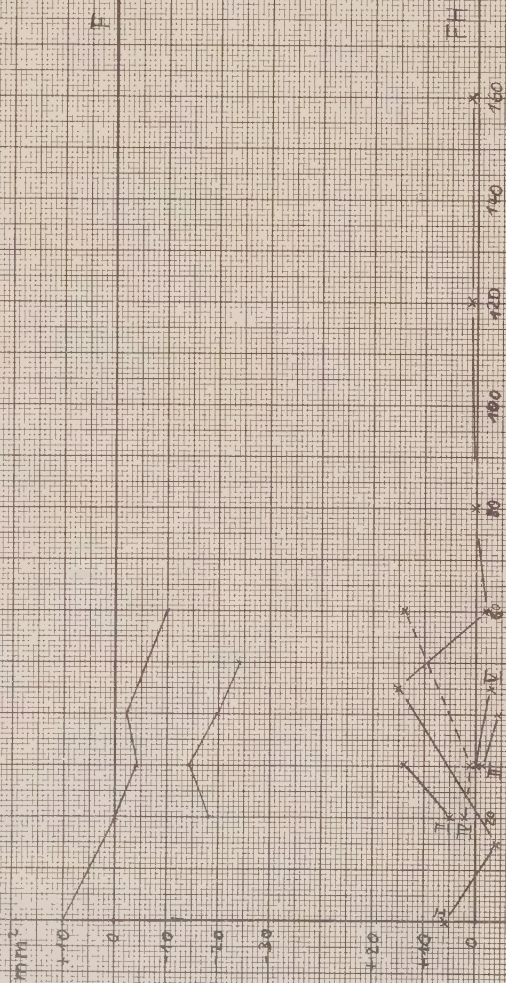
Einfluß der den verschiedenen Substanzen beigegebenen Lösungsmittel
bei der jeweiligen Applikationsweise auf das Farbstoff- und Farb-
stoff-Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten

(nach Glück¹⁸, Batisweiler¹⁴, Lutz⁴
und Gareissen²²)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
		0'	4	75	76	+ 1	-	117	113	- 4	-
reines		15'	4	75	75	0	-	117	113	- 4	-
Wasser		30'	4	75	76	+ 1	-	117	113	- 4	-
20' bei	Bade- appl.	45'	4	75	75	0	-	117	116	- 1	-
38°C		60'	4	75	75	0	-	117	114	- 3	-
Anfangs-		75'	4	75	77	+ 2	-	117	115	- 2	-
temp.		90'	4	75	76	+ 1	-	117	114	- 3	-

T a b e l l e 25

Einfluß von reinem Wasser als Lösungsmittel bei Badeapplikation
auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading beim
Menschen (nach Windsheimer⁵⁾)



- I. Preinseion (13 mg/kg) i.e. bei adrenalektomierten Ratten
- II. Reichenhaller Moorbrot, 3-4 Baderapill, 6 adrenalekt. Ratten
- III. Neudorfinger Schwefelstoff, 1-500 Baderapill, 6 adrenalekt. Ratten
- IV. Wurzaracher Moorbrot, 1-2 Baderapill, 6 adrenalekt. Ratten
- V. Chloräthylbenzylmethoxycarbon (200 mg/kg) i.e. 6 adrenalekt. Ratten
- VI. Resorcin (100 mg/kg) i.e. bei adrenalektomierten Ratten
- VII. Torapim (2 g/kg) i.e. bei adrenalektomierten Ratten

Abb. 13

Besprechung der Ergebnisse:

Für alle untersuchten Substanzen konnte in den verschiedenen Applikationsformen eine hemmende Wirkung auf das Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bestätigt bzw. nachgewiesen und statistisch gesichert werden.

Die reine Farbstoff-Quaddel ohne Hyaluronidasebeigabe verhält sich in ihrer Reaktion in manchen Versuchsreihen uncharakteristisch, läßt jedoch im allgemeinen ebenfalls eine Tendenz zur Hemmung ihrer Ausbreitung erkennen, die in manchen Fällen auch statistisch zu sichern ist. Es kann nicht entschieden werden, ob hier eine hemmende Beeinflussung der gewebeeigenen Hyaluronidase oder ein hyaluronidaseunspezifischer Permeabilitätseffekt vorliegt.

Auch kann der hemmende Effekt auf das Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading nicht als spezifisch hyaluronidasehemmende Wirkung interpretiert werden, da im biologischen Versuch allgemein permeabilitätshemmende nicht streng von hyaluronidasehemmenden Wirkungen getrennt werden können, denn der Vorgang der Permeabilitätshemmung ist sicher ein komplexer. Die Versuche zeigten jedoch eindeutig, daß das durch Hyaluronidasebeigabe erhöhte Spreading durch Applikation der geprüften Substanz in weit größerem Ausmaß gehemmt wird, als dies bei der reinen Farbstoffquaddel der Fall ist. Damit kann gesagt werden, daß ein hemmender Einfluß auf die Hyaluronidasewirkung besteht. Aussagen über die in vivo hyaluronidasehemmende Wirkung der Prüfsubstanzen sind deshalb in diesem Sinne zu verstehen.

- 1) Bothner, I.: Diss. München 1963
- 2) Schuler, J. E. M.: Diss. München 1961
- 3) Jankowski, A.: Diss. München 1957
- 4) Lutz, D.: Diss. München 1961
- 5) Windsheimer, M.: Diss. München 1963
- 6) Gabler, W.: Diss. München in Vorbereitung
- 7) Hartmann, M.: Diss. München 1959
- 8) Scholze, H.: Diss. München 1960
- 9) Nath, M.: Diss. München 1963
- 10) Mathies, H., Batisweiler, T., Kreislmeier, G. u. Will, E.:
Arzneim.-Forsch. 10, 484 (1960)
- 11) Mathies, H., Will, E. u. Schüle, V.: Med. Mschr. 16, 8 (1962)
- 12) Mathies, H.: unveröffentlichte Versuche
- 13) v. Werther, G.: Diss. München 1958
- 14) Batisweiler, T.: Diss. München 1962
- 15) Will, E.: Diss. München 1960
- 16) Krott, H.: Diss. München 1960
- 17) Schlierf, G.: Diss. München 1959
- 18) Glück, A.: Diss. München 1959
- 19) Lingnau, W.: Diss. München 1960
- 20) Mathies, H., Fuchs, E. u. Hiekmann, D.: Fundam. Balneo-Bioclimateol.
1, 433 (1960)
- 21) Aschtiany, A.: Diss. München 1961
- 22) Gareissen, G.: Diss. München 1960
- 23) Mathies, H. u. v. Werther, G.: Zschr. angew. Bäder-Klimahk.
2, 503 (1958)

Einfluß verschiedener Substanzen auf das Farbstoff- und
Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei adrenaletomierten
Ratten

Es war interessant, Untersuchungen durchzuführen, die einen Einblick in den Wirkungsmechanismus der hyaluronidasehemmenden Substanzen gewähren.

Im Hinblick auf eine verschiedentlich angenommene nebennierenrinden-stimulierende Wirkung antirheumatischer Substanzen, der eine Bedeutung in ihrem Wirkungsablauf zugeschrieben wird, waren zunächst Untersuchungen an adrenaletomierten Ratten vorzunehmen.

Es war deshalb der Einfluß einiger in Versuchsgruppe 1 untersuchter Substanzen auf das Hyaluronidase-Spreading bei adrenaletomierten Tieren geprüft worden ¹, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

Versuchsreihe 1:

Es wurde Acetylsalicylsäure in 1%iger Natriumbikarbonatlösung s.c. bei adrenaletomierten Tieren geprüft ¹ und die Ergebnisse in Tabelle 26 dargelegt.

Substanz Dosis	Versuchs-		N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
	Appli- kation	Zeit nach Applik.		vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Acetyl- salicyl- säure 500mg/kg	s.c.	40'	7	146				232	245	+13	-

T a b e l l e 26

Einfluß von Acetylsalicylsäure bei s.c. Applikation auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei adrenaletomierten Ratten (nach J a n k o w s k i ¹)

Versuchsreihe 2:

In dieser Versuchsreihe wurde die Ausbreitung der Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel unter Phenylbutazon beim adrenalectomierten Tier geprüft². Siehe Tabelle 27.

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Phenyl- butazon 200mg/kg	s.c.	60'	4	102	104	+ 2		168	196	+28	-

T a b e l l e 27

Einfluß von Phenylbutazon bei s.c. Applikation auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei adrenalectomierten Ratten (nach H a r t m a n n²)

Versuchsreihe 3:

Es wurden adrenalectomierten Ratten Prednisolon injiziert und im Anschluß daran das Verhalten der beiden Quaddeltypen registriert³.

Die Ergebnisse sind aus Tabelle 28 und Abbildung 14 ersichtlich.

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Predni- solon 25mg/kg	i.v.	0'	3	114	124	+10	-	199	205	+ 6	-
		15'	3					199	195	- 4	-
		45'	3					199	214	+15	-
		60'	3					199	197	- 2	-
		80'	4	122	118	- 4	-	206	206	0	-
		120'	4					206	207	+ 1	-
		160'	4					206	207	+ 1	-

T a b e l l e 28

Einfluß von Prednisolon bei i.v. Applikation auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei adrenalectomierten Ratten (nach S c h l i e r f³)

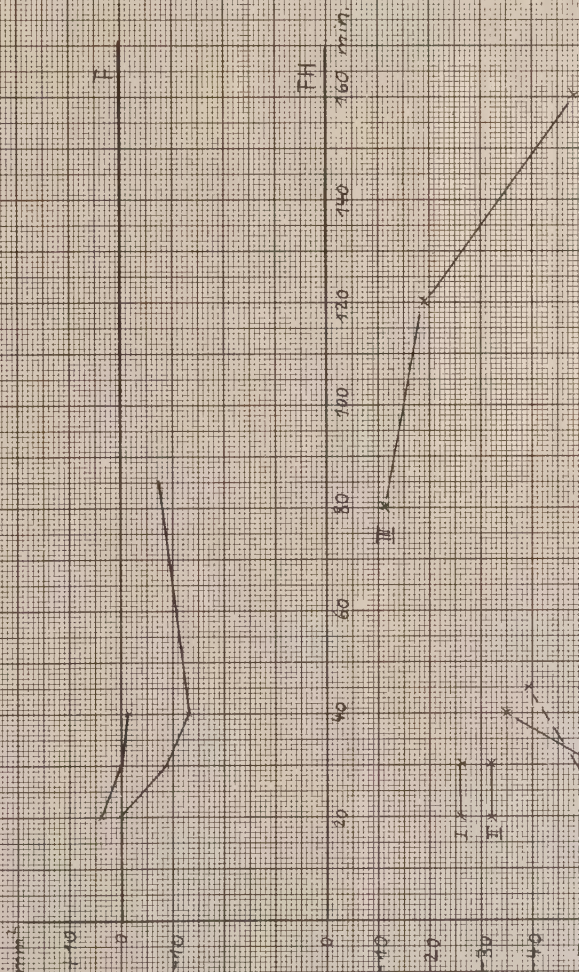


Abb. 14

Versuchsreihe 4:

Die adrenaletomierten Tiere wurden in Reichenhaller Moorbrei 3:4⁴, Reichenhaller Moorschwebstoff 1:500⁴ und in Neydhartinger Moorschwebstoff 1:500⁵ und Wurzacher Moor 1:2⁶ gebadet und die Kontrolle der beiden Quaddeltypen zu den in Tabelle 29 angegebenen Zeiten durchgeführt. Siehe auch Abbildung 14.

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor ² mm	nach ² mm	Diff. mm ²	p	vor ² mm	nach ² mm	Diff. mm ²	p
Reichenh. Moorbrei 3:4, 30' bei 37°C	Bade- appl.	20'	4	133	123	-10	-	179	181	+ 2	-
		30'	4	133	126	- 7	-	179	193	+14	-
Reichenh. Moor- schwebst. 1:500 30', 37°	Bade- appl.	120'	4	128	126	- 2	-	187	203	+16	5%
Neydhar- tinger Schwebst. 1:500 30', 37°	Bade- appl.	30'	4	135	121	-14	-	191	190	- 1	-
		40'	4	135	115	-20	-	192	188	- 4	-
Wurzacher Moor 1:2 30', 37°	Bade- appl.	20'	6	131	120	-11	-	195	200	+ 5	-
		30'	6	125	115	-10	-	198	199	+ 1	-
		60'	6	130	120	-10	-	197	211	+14	-

T a b e l l e 29

Einfluß von Moorsubstanzen bei Badeapplikation auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei adrenaletomierten Ratten (nach Mathies und v. Werther⁴, Mathies⁵, Mathies, Fuchs und Hiekmann⁶)

Versuchsreihe 5:

In dieser Versuchsreihe wurde Chloräthylbenzmethoxazon an adrenalectomierten Ratten geprüft ⁷. Die Ausbreitung der Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel ist aus Tabelle 30 und Abbildung 14 ersichtlich.

Versuchsreihe 6:

In dieser Versuchsreihe wurde das Verhalten der Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel nach s.c. Chloroquinapplikation bei adrenalectomierten Tieren geprüft und die Ergebnisse in Tabelle 30 und Abbildung 14 festgehalten ⁸.

Versuchsreihe 7:

Den adrenalectomierten Tieren wurde Forapin (Bienengift) in die Bauchhaut injiziert und die Wirkung auf das Hyaluronidase-Spreading untersucht ⁹ (Tabelle 30 und Abbildung 14).

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Chlor- äthyl- benzmeth- oxazon 200mg/kg	i.p.	30'	4	78	74	- 4	-	194	194	0	-
		45'	4	78	70	- 8	-	193	190	- 3	-
Chloro- quin 100mg/kg	s.c.	20'	6	151	133	-18	0,1%	214	192	-22	0,1%
		50'	6	151	127	-24	0,1%	214	172	-42	0,1%
Forapin 2 g/kg	i.c.	20'	6	118	118	0	-	191	182	- 9	0,1%
		40'	6	118	116	- 2	-	191	177	-14	0,1%

T a b e l l e 30

Einfluß von Chloräthylbenzmethoxazon (bei i.p. Applikation), Chloroquin (bei s.c. Applikation) und Forapin (bei i.c. Applikation) auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei adrenalectomierten Ratten (nach Gerson ⁷, Tsakonias ⁸ und Krott ⁹)

Besprechung der Ergebnisse:

Es zeigte sich, daß bei adrenaletomierten Tieren keine der untersuchten Substanzen, mit Ausnahme des Chloroquins, einen hemmenden Einfluß auf das Hyaluronidase-Spreading ausübt. Es ist damit wahrscheinlich, daß die Nebenniere eine Bedeutung im Wirkungsablauf des hyaluronidasehemmenden Mechanismus besitzt. Lediglich das Chloroquin scheint zunächst unabhängig von der Nebenniere seine Wirkung entfalten zu können. Bei den übrigen geprüften Substanzen ist damit eine Nebennierenwirkung hinsichtlich der Hyaluronidasehemmung möglich.

Auffallend ist, daß auch Prednisolon als Nebennierenderivat bei adrenaletomierten Tieren keine hyaluronidasehemmende Wirkung ausübt. Damit wird die diskutierte Nebennierenrindenwirkung der hyaluronidasehemmenden Substanzen bereits fraglich.

Es war deshalb in den weiteren Versuchsreihen zu untersuchen, ob für die übrigen Stoffe eine Nebennierenrindenstimulierung als wirksames Prinzip der Hemmung der Hyaluronidaseaktivität nachgewiesen werden kann.

- 1) Jankowski, A.: Diss. München 1957
- 2) Hartmann, M.: Diss. München 1959
- 3) Schlierf, G.: Diss. München 1959
- 4) Mathies, H. u. v. Werther, G.: Zsch. angew. Bäder-Klimahk. 5,
503 (1958)
- 5) Mathies, H.: Zsch. Rheumaforsch. 18, 205 (1959)
- 6) Mathies, H., Fuchs, E. und Hiekmann, D.: Fund. baln.-bioclim.
1, 433 (1960)
- 7) Gerson, U.: Diss. München 1961
- 8) Tsakonas, G.: Diss. München 1962
- 9) Krott, H.: Diss. München 1960

Bestimmung des Ascorbinsäuregehaltes der Nebenniere bei
intakten Ratten

Nach S a y e r s und S a y e r s ¹ ist ein Abfall des Ascorbinsäuregehaltes der Nebenniere als Ausdruck einer Nebennierenrindenstimulierung zu werden.

Es war deshalb zu prüfen, ob die in Versuchsgruppe 1 geprüften hyaluronidasehemmenden Substanzen den Ascorbinsäuregehalt der Nebenniere beeinflussen. Teilweise konnte auf bereits vorliegende Versuche von D o m e n j o z ² zurückgegriffen werden, in denen er den Einfluß von Acetylsalicylsäure, Phenylbutazon und Cortison auf den Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren untersucht hatte. Diese Versuche wurden durch M a t h i e s und Mitarbeiter bei Applikation von Chloroquin ³, Nicopyron ⁴, Moorbädern ^{5, 6}, Schwefelbädern ⁷ und indifferenten Wasserbädern ^{5, 6, 7} ergänzt.

Die Versuchsbedingungen und -ergebnisse sind in Tab. 31 - 35 dargestellt.

	Leer	30	60 nach 5 mg Resochin	90	120	150 Min
N	10	7	7	7	7	7
Ascorbin- säuregeh. γ/100 g Tier	3,99	3,36	3,80	3,00	3,18	3,50

	L	30	60	90	120	150
L		-0,63	-0,19	-0,99	-0,81	-0,49
30	1,0%		0,44	-0,36	-0,18	0,14
60	-	5,0%		-0,80	-0,62	-0,30
90	0,1%	-	0,1%		0,18	0,50
120	0,1%	-	1,0%	-		0,32
150	5,0%	-	-	5,0%	-	

T a b e l l e 31

Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren intakter Ratten und
Matrix der Mittelwertsdifferenzen nach subcutaner
Applikation von 5 mg Resochin (nach H a a s ³⁾)

	Leerwert	15'	30'	60'	90'	120'	150'	180'
		nach 20 mg Nicopyron/100 g Tier i. p.						
N	5	5	5	5	5	5	5	5
Ascorbinsäuregehalt der NN in μ /mg NN	4,84	3,60	3,23	1,94	2,87	2,24	3,31	3,81
Mittelwert aller behandelten Tiere: 3,00								

	L	15'	30'	60'	90'	120'	150'	180'
L		-1,24	-1,61	-2,90	-1,97	-2,60	-1,53	-1,03
15'	50%		-0,37	-1,66	-0,73	-1,36	-0,29	0,21
30'	1,0%	-		-1,29	-0,36	-0,99	0,08	0,58
60'	0,1%	1%	5,6%		0,93	0,30	1,37	1,87
90'	1,0%	-	-	-		-0,63	0,44	0,94
120'	0,1%	5%	-	-	-		1,07	1,57
150'	1,0%	-	-	5%	-	-		0,50
180'	-	-	-	1%	-	1%	-	

T a b e l l e 32

Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren intakter Ratten und Matrix der Mittelwertsdifferenzen nach Nicopyron bei i.p. Applikation (nach K r e i s e l m e i e r ⁴)

	unbehandelte Tiere	30' nach Wasserbad	30' nach Moorschweb. Bad
N	8	4	4
Ascorbin- säuregehalt $\bar{x}$ /mg NN	3,35	3,02	2,32

T a b e l l e 33

Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren intakter Ratten nach
Moorschwebstoff- und Wasserbad (nach J u n g ⁵)

	Leerwert ohne Bad	30' nach Wasserbad	60' 30', 37°C	90' 30', 37°C	120' 30', 37°C	30' nach Moorbad	60' 30', 37°C	90' 30', 37°C	120' 30', 37°C
N	9	5	5	5	5	4	5	4	5
Ascorbin- säuregehalt $\bar{x}$ /mg NN	4,34	2,92	2,87	2,93	3,03	2,74	2,85	2,47	2,61
		Mittelwert 2,94				Mittelwert 2,67			
	Mittelwert 3,37								

	Leerwert	nach Moorbad	nach Wasserbad
Leerwert		-1,67	-1,40
nach Moorb.	0,1%		-0,27
nach Wasserb.	0,1%		

T a b e l l e 34

Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren intakter Ratten und
Matrix der Mittelwertsdifferenzen nach Wurzacher Moor-
und Wasserbad (nach M a t h i e s , F u c h s und
H i e k m a n n ⁶)

N	Leer wert	0'	120'	0'	15'	30'	60'	90'	120'	180'
		10	10	10	10	10	10	10	10	10
Ascorbinsäure- gehalt in % /mg NN	4,47	3,40	3,38	3,16	3,18	2,95	2,89	3,84	3,85	4,25

L	0'	120'	0'	15'	30'	60'	90'	120'	180'
0'	-1,07	-1,09	-1,31	-1,29	-1,52	-1,58	-0,63	-0,62	-0,62
120'		-0,02	-0,24	-0,22	-0,45	-0,51	0,44	0,45	0,85
0'			-0,22	-0,20	-0,43	-0,49	0,46	0,47	0,87
15'				0,02	-0,21	-0,27	0,68	0,69	1,09
30'					-0,23	-0,29	0,66	0,67	1,07
60'						-0,06	0,89	0,90	1,30
90'							0,95	0,96	1,36
120'								0,01	0,41
180'									0,40

T a b e l l e 35

Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren und Matrix der Mittelwertsdifferenzen
bei intakten Ratten nach Schwefel- und Wasserbädern (nach S o l d j u 7)

Besprechung der Ergebnisse:

Die Untersuchungen zeigten, daß mit Ausnahme des Cortisons alle geprüften Substanzen eine Abnahme des Ascorbinsäuregehaltes der Nebennierenrinde bewirken.

Daß Cortison die Nebennierenrinde nicht stimuliert, ist bekannt und verständlich. Die übrigen in vivo hyaluronidasehemmenden Substanzen bewirken jedoch eine Stimulierung der Nebennierenrinde, deren Bedeutung für die hyaluronidasehemmende Wirkung in weiteren Versuchsreihen zu klären ist.

Bei den mit Moor- und Schwefelbädern durchgeführten Versuchen sind auch Bestimmungen nach Applikation indifferenter Wasserbäder durchgeführt worden. Die diesbezüglichen Versuchsergebnisse zeigten, daß auch diese eine Abnahme des Ascorbinsäuregehaltes der Nebennierenrinde bewirken, obwohl sie, wie aus den Untersuchungen der Versuchsgruppe 1 hervorgeht, keine Hemmung des Farbstoff-Hyaluronidase-Spreadings hervorrufen. Damit ist fraglich, ob eine Rindenstimulierung für das Zustandekommen einer Hyaluronidasehemmung Voraussetzung ist.

- 1) Sayers, G. u. Sayers, M.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 50, 522 (1949)
- 2) Domenjoz, R.: Arch. exp. Path. Pharmacol. 255, 14 (1955)
- 3) Haas, K.: Diss. München 1961
- 4) Kreiselmeier, G.: Diss. München 1961
- 5) Jung, M.: Diss. München 1960
- 6) Mathies, H., Fuchs, E. u. Hiekmann, D.: Fund. baln.-bioclim. 1, 433
(1960)
- 7) Solhdju, H.: Diss. München 1964

Bestimmung des Ascorbinsäuregehaltes der Nebennieren
an hypophysektomierten
Ratten

Da vermutlich nebennierenrindenstimulierende Agentien ihre Wirkung über eine ACTH-Ausschüttung aus der Hypophyse entfalten, waren die Ascorbinsäurebestimmungen an hypophysektomierten Ratten zu wiederholen ^{1, 2}. Auch hier liegen bereits entsprechende Untersuchungen von D o m e n j o z ³ mit Salicylaten vor. Die Versuchsbedingungen und -ergebnisse sind aus Tab. 36 und 37 ersichtlich.

	30' nach Moorschwebstoff	Leerwert
N	5	8
Ascorbinsäure- gehalt γ/mg NN	3,42	3,35

	L	M
L	-	+0,07
M	-	

T a b e l l e 36

Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren hypophysektomierter Ratten und Matrix der Mittelwertsdifferenzen nach Moorschwebstoffbad (nach J u n g ¹)

	Leerwert	60' nach Wasserbad	90' nach Wasserbad	60' nach Schwefelbad	90' nach Schwefelbad
N	6	10	10	4	4
Ascorbinsäure- gehalt γ/mg NN	4,22	3,22	3,57	5,14	5,15

	L	Sch 60'	Sch 90'	W 60'	W 90'
L		-0,92	0,93	-1,00	-0,65
Sch 60'	1,0%		0,01	-1,92	-1,57
Sch 90'	1,0%	-		-1,93	-1,58
W 60'	0,1%	0,1%	0,1%		0,35
W 90'	5,0%	0,1%	0,1%	-	

T a b e l l e 37

Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren hypophysektomierter Ratten und Matrix der Mittelwertsdifferenzen nach Schwefel- und Wasserbädern (nach S o l h d j u ²)

Besprechung der Ergebnisse:

Erwartungsgemäß bleibt die Abnahme des Ascorbinsäuregehaltes der Nebennieren unter den geprüften Substanzen bei hypophysektomierten Ratten aus. Dieses Versuchsergebnis ist in den folgenden Versuchsserien mit der hyaluronidasehemmenden Wirkung bei hypophysektomierten Tieren zu vergleichen.

- 1) Jung, M.: Diss. München 1960
- 2) Solhdju, H.: Diss. München 1964
- 3) Domenjoz, R.: Arch. exp. Path. Pharmacol. 255, 14 (1955) .

Einfluß einiger in Versuchsgruppe 1 geprüfter Substanzen auf das
Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei hypophys-
ektomierten Ratten

Die Ergebnisse der Versuchsgruppe 3 und 4 zeigen, daß die untersuchten hyaluronidasehemmenden Substanzen eine nebennierenstimulierende Wirkung ausüben, die bei hypophysektomierten Ratten ausbleibt.

Um einen über die Nebennierenrinde laufenden Mechanismus der Hyaluronidasehemmung zu beweisen, war zu untersuchen, ob bei hypophysektomierten Ratten der hyaluronidasehemmende Effekt ebenfalls ausbleibt.

Versuchsreihe 1: Salicylate

Es wurden dem Tier Acetylsalicylsäure s.c. injiziert und nach 40' die Ausbreitung der Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel geprüft ¹ (siehe Tabelle 38).

Versuchsreihe 2: Phenylbutazon

Es wurden den Tieren Phenylbutazon verabreicht und der Einfluß auf die beiden Quaddeltypen untersucht ². Einzelheiten der Versuchsanordnung sowie die Ergebnisse des Versuchs sind aus Tabelle 38 zu entnehmen.

Versuchsreihe 3: Moorsubstanzen

Den Tieren wurde jeweils ein 30' währendes Moorbad von 37°C appliziert und nach den in Tabelle 38 angeführten Zeiten die Auswirkungen auf die Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel kontrolliert ^{3, 4}. In Abbildung 14 sind die Ergebnisse graphisch dargestellt.

Versuchsreihe 4: Glucocorticoide

Als Vertreter dieser Gruppe wurde den Tieren Prednisolon i.v. injiziert und daran anschließend zu den in der Tabelle angegebenen Zeitpunkten die Ausbreitung der Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel bestimmt ⁵ und in Abbildung 14 und Tabelle 38 dargestellt.

Versuchsreihe 5: Chloräthylbenzmethoxazon

In dieser Versuchsanordnung wurde den Tieren die Substanz i.p. injiziert ⁶. Die Bestimmung der Hyaluronidaseaktivität erfolgte zu den in Tabelle 38 angegebenen Zeitpunkten. Die Ergebnisse sind

ebenfalls aus Abbildung 14 ersichtlich.

Versuchsreihe 6: Bienengift

Es wurde den Tieren Forapin i.c. injiziert und zu zwei Zeiten nach der Injektion die Messung der Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel vorgenommen ⁷.

Einzelheiten der Versuchsanordnung und der Ergebnisse sind aus Tabelle 38 und Abbildung 14 ersichtlich.

Versuchs- Substanz Dosis	Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Acetyl- salicyl- säure 50mg/100g	s.c.	40'	4	119	-	-	-	210	169	-41	-
Phenyl- butazon 20mg/100g	s.c.	60'	5	127	125	- 2	-	229	185	-44	1%
Reichenh. Moorbrei 3:4, 30'	Bade-	20'	4	139	143	+ 4	-	225	193	-32	-
	appl.	30'	4	139	133	- 6	-	225	193	-32	-
Neydh. Moor- schwebst. 1:500, 30'	Bade-	30'	5	148	139	- 9	-	232	206	-26	-
	appl.	40'	5	148	136	-13	-	232	206	-26	-
Solu- Decortinl 2,5mg/ 100 g	i.v.	80'	4	152	145	- 7	-	238	227	-11	-
		120'	4					238	219	-19	-
		160'	4					238	190	-48	1%
Chlor- äthyl- benzmeth. 20mg/ 100 g	i.p.	30'	4	79	79	± 0	1%	204	149	-55	1%
		45'	4	79	78	- 1	1%	204	149	-39	1%
Forapin 0,2 ml/ 100 g	i.c.	20'	5	116	116	± 0	-	195	126	-69	0,1%
		40'	5	116	115	- 1	-	195	120	-35	0,1%

T a b e l l e 38

Einfluß von Acetylsalicylsäure s.c., Phenylbutazon s.c., Reichenhaller und Neydharteringer Moorbädern, Solu-Decortin H i.v., Chlor-äthylbenzmethoxazon i.p. und Forapin i.c. auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei hypophysektomierten Ratten (nach Jankowski¹, Hartmann², Mathies und v. Werther³, Rösch⁴, Schlierf⁵, Gerson⁶ und Krott⁷)

Besprechung der Ergebnisse:

Die Ergebnisse zeigen, daß die Hypophysektomie keinen Einfluß auf den hyaluronidasespreadinghemmenden Effekt besitzt, obwohl nach Versuchsgruppe 4 die nebennierenrindenstimulierende Wirkung durch die Hypophysektomie blockiert wird. Damit kann die zwar vorhandene nebennierenrindenstimulierende Wirkung der hyaluronidasehemmenden Substanz nicht für das Zustandekommen ihres hyaluronidasehemmenden Effektes verantwortlich gemacht werden.

Da andererseits durch die Ergebnisse der Versuchsgruppe 2 gezeigt werden konnte, daß die Anwesenheit der Nebenniere für das Zustandekommen des hyaluronidasehemmenden Effektes erforderlich ist, muß im Folgenden eine über das Nebennierenmark laufende Wirkung diskutiert und zu beweisen versucht werden.

- 1) Jankowski, A.: Diss. München 1957
- 2) Hartmann, M.: Diss. München 1959
- 3) Mathies, H. u. v. Werther, G.: Zschr. angew. Bäder-Klimahk.
2, 503 (1958)
- 4) Rösch, U.: Diss. München 1959
- 5) Schlierf, G.: Diss. München 1959
- 6) Gerson, U.: Diss. München 1961
- 7) Krott, H.: Diss. München 1960

Einfluß von Adrenalin und Noradrenalin auf das Farbstoff-
und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading

Wenn eine über das Nebennierenmark laufende Wirkung der hyaluronidasehemmenden Substanzen angenommen wird, ist zu fordern, daß die Nebennierenmarkhormone Adrenalin und Noradrenalin ebenfalls eine hemmende Wirkung auf das Hyaluronidasespreading ausüben. Diese Wirkung müßte auch bei adrenalektomierten Tieren vorhanden sein und sollte in entsprechenden Versuchsreihen an intakten und adrenalektomierten Ratten untersucht werden.

Versuchsreihe 1

In dieser Versuchsreihe wurden den Tieren verschiedene Dosen der Versuchssubstanzen appliziert und deren Einfluß auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading geprüft ¹, 2, 3, 4, 5, 6, 7. Einzelheiten der Versuchsanordnung sowie der -ergebnisse sind aus Tab. 39-41 und Abb. 15 und 16 ersichtlich.

Versuchsreihe 2

In dieser Versuchsreihe soll untersucht werden, ob auch bei totaladrenalektomierten Tieren durch Adrenalinapplikation eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität erreicht werden kann ¹. Die spezielle Versuchsanordnung und die Ergebnisse dieser Versuchsreihe gehen aus Tabelle 42 und Abbildung 17 hervor.

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Adrenalin 6y/100 g	i.v.	40'	10	143	-	-	-	245	209	-39	5%
Adrenalin 2y/100g	s.c.	15'	5	130	117	-13	-	227	157	-70	0,1%
		30'	5	130	119	-11	-	227	164	-63	0,1%
Adrenalin 1y/100g	i.v.	15'	3	128	122	- 6	-	256	203	-53	0,1%
		45'	3	128	126	- 2	-	256	244	-12	-
Noradre- nalin 1y/100g	i.v.	15'	5	136	127	- 9	0,1%	243	220	-23	0,1%
		45'	5	136	118	-18	0,1%	243	229	-14	0,1%
Adrenalin 1y/100 g	i.v.	15'	5	150	149	- 1	-	229	188	-41	0,1%
		30'	5	145	137	- 8	-	230	203	-27	0,1%
		60'	5	150	142	- 8	-	229	170	-59	0,1%
		90'	5	145	128	-17	-	230	148	-82	0,1%
Adrenalin 1y/100g	i.v.	0'	3	128	133	+ 5	-	256	231	-25	5%
		15'	3	128	122	- 6	-	256	202	-54	1%
Noradre- nalin 1y/100g	i.v.	0'	3	133	125	- 8	-	238	222	-16	5%
		15'	3	133	110	-14	-	238	179	-59	1%

T a b e l l e 39

Einfluß von Adrenalin und Noradrenalin bei i. v. Applikation auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten (nach J a n k o w s k i ¹, B a u k e ², K i r a l y ³, R e i n d l ⁴ und S c h m i d t ⁵)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Adre- nalin 0,5 γ/ 100 g	s.c.	0	6	107	89	-18	-	207	169	-38	-
		15'	6	114	97	-17	-	227	193	-34	-
		45'	6	107	76	-31	-	207	148	-59	-
		90'	6	114	93	-21	-	227	183	-44	-
		120'	6	119	104	-15	-	204	173	-31	-
		150'	6	119	100	-19	-	204	157	-47	-
Adre- nalin 0,1 γ/ 100 g	s.c.	0	6	103	92	-11	-	198	192	- 6	-
		15'	6	102	90	-12	-	213	184	-29	-
		45'	6	103	103	± 0	-	198	185	-13	-
		90'	6	102	95	- 7	-	213	178	-35	-
		120'	6	131	108	-23	-	219	171	-48	-
		150'	6	131	111	-20	-	219	167	-52	-
		180'	6	129	116	-13	-	229	207	-22	-
Adre- nalin 0,05γ/ 100 g	s.c.	180'	6	120	115	- 5	-	222	202	-20	-
		210'	6	120	105	-15	-	222	191	-31	-

T a b e l l e 40

Einfluß von Adrenalin s.c. auf das Farbstoff- und Farbstoff-
Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten (nach K r o h n ⁶⁾)

Versuchs- Substanz Dosis	Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				p	Farbstoff-Hyase-Quaddel				p
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²			vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²		
Adre- nalin 0,01 γ/ 100 g	s. c.	0	6	100	106	+ 6			191	186	- 5		
		15'	6	123	122	- 1			220	202	-18		
		45'	6	100	110	+10			191	193	+ 2		
		90'	6	123	118	- 5			220	216	- 4		
		120'	6	111	114	+ 3			207	180	-27		
		150'	6	111	98	-13			213	173	-40		
		180'	6	111	118	+ 7			213	192	-21		
		210'	6	111	109	- 2			207	178	-29		
Adre- nalin 0,001 γ/ 100 g	s. c.	0	6	106	106	± 0			217	217	± 0		
		15'	6	114	115	+ 1			218	218	± 0		
		45'	6	106	108	+ 2			217	209	- 8		
		90'	6	114	116	+ 2			218	210	- 8		
		120'	6	116	114	- 2			211	189	-22		
		150'	6	116	108	- 8			211	201	-10		
		180'	6	104	108	+ 4			195	196	+ 1		
		210'	6	104	107	+ 3			195	196	+ 1		

T a b e l l e 41

Einfluß von Adrenalin s. c. auf das Farbstoff- und Farbstoff-
Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten (nach K r o h n ⁶⁾)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Adre- nalin 6 γ/ 100 g	i.v.	0'	6	154				226	227	+ 1	
		30'-60'	24	144				220	187	-33	0,1%
		60'-105'	4	137				211	195	-16	
		105'-180'	12	136				225	222	- 3	
Adre- nalin 6 γ/ 100 g	i.v.	15'	5	128	132	+ 4		205	205	± 0	
		45'	5	128				205	177	-28	1,0%
		90'	5	134	134	± 0		224	197	-27	
Adre- nalin 1 γ/ 100 g	i.v.	0'	4	128				205	201	- 4	
		15'	4	124				204	162	-42	1,0%
		45'	4	124				204	180	-24	1,0%
Adre- nalin 0,5 γ/ 100 g	i.v.	15'	4	132				204	197	- 7	
		45'	4	132				204	199	- 5	
Noradre- nalin 6 γ / 100 g		15'	5	130				205	211	+ 6	
		30'	4	130				208	182	-26	5%
		45'	4	130				207	170	-37	0,1%
		90'	4	131				210	188	-22	0,1%
Noradre- nalin 1 γ / 100 g	i.v.	0'	10	129				215	213	- 2	
		15'	10	133				227	173	-54	0,1%
		30'	8	129				219	169	-50	0,1%
		45'	10	133				219	188	-31	0,1%
		90'	10	130				204	202	- 2	
Noradre- nalin 0,5 γ / 100 g	i.v.	15'	5	140				209	201	- 8	
		45'	5	140				209	203	- 6	

T a b e l l e 42

Einfluß von Adrenalin und Noradrenalin i.v. auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei adrenaletomierten Ratten
(nach J a n k o w s k i ¹ und S c h e u f e l e ⁷)

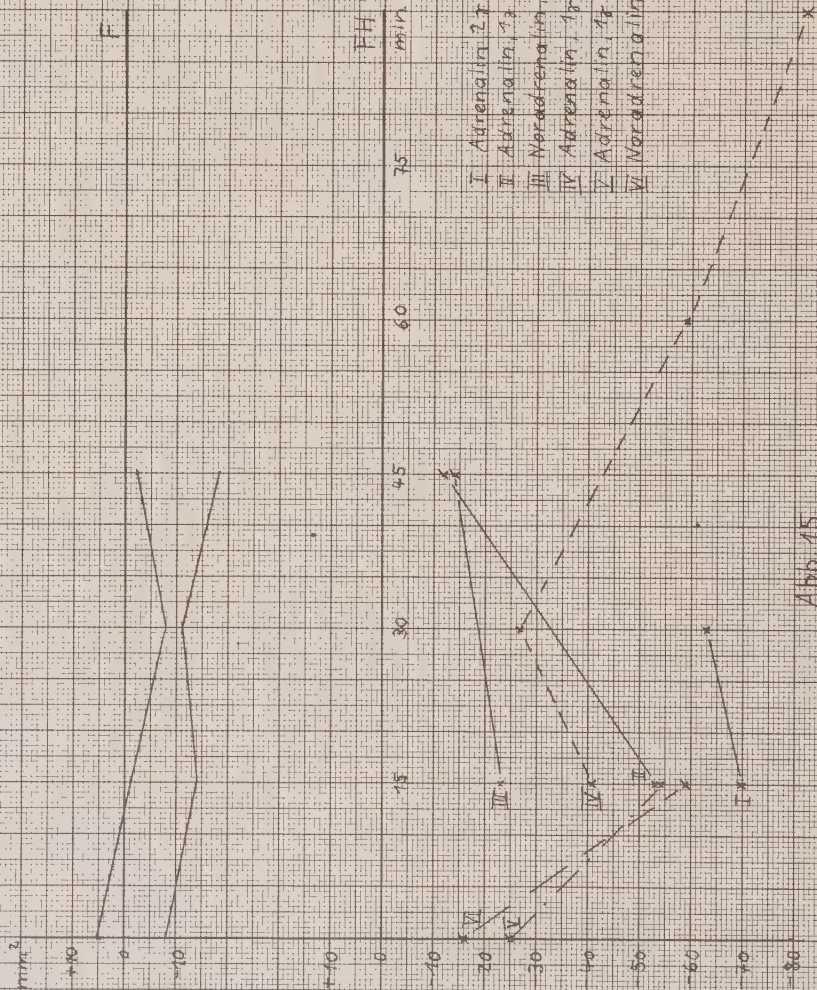


Abb. 15

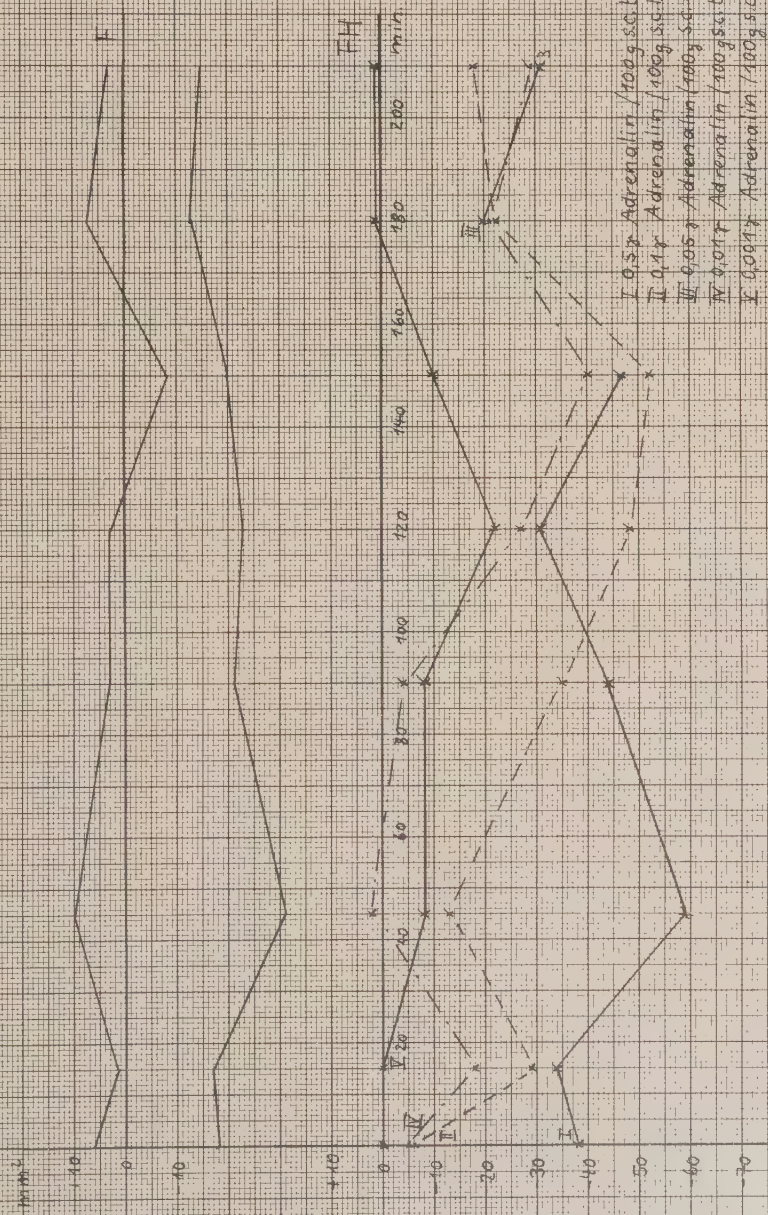
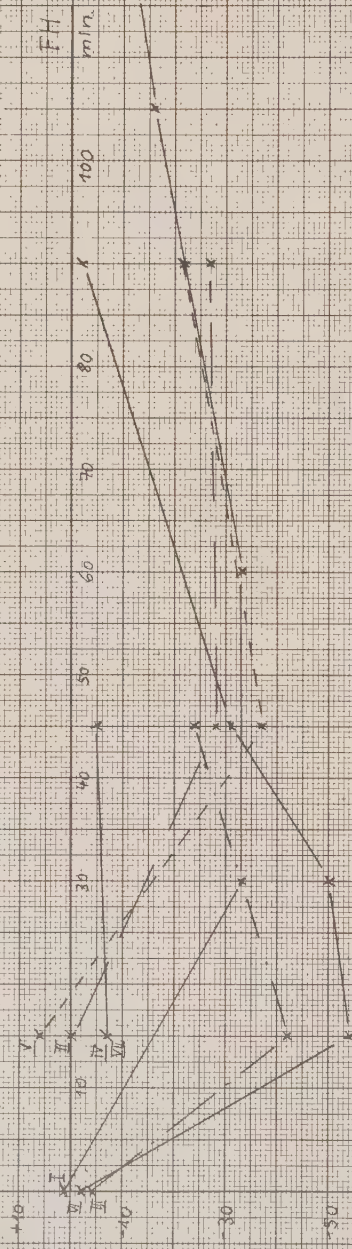


Abb. 16

1977



- I 6g Adrenalin / 100g i.v. bei adrenalectomierten Ratten
- II 6g Adrenalin / 100g i.v. bei adrenalectomierten Ratten
- III 1g Adrenalin / 100g i.v. bei adrenalectomierten Ratten
- IV 0,5g Adrenalin / 100g i.v. bei adrenalectomierten Ratten
- V 6g Noradrenalin / 100g i.v. bei adrenalectomierten Ratten
- VI 6g Noradrenalin / 100g i.v. bei adrenalectomierten Ratten
- VII 0,5g Noradrenalin / 100g i.v. bei adrenalectomierten Ratten
- VIII 0,5g Noradrenalin / 100g i.v. bei adrenalectomierten Ratten

Abb. 17

Besprechung der Ergebnisse:

Es zeigt sich, daß sowohl Adrenalin als auch Noradrenalin bei intakten und adrenaletomierten Tieren eine Hemmung des Hyaluronidase-Spreadings bewirken, die ebenfalls statistisch gesichert werden konnte.

Auffallend ist, daß Maximalwerte bereits zu einem früheren Zeitpunkt p. i. festgestellt werden konnten als es bei Gabe der in Versuchsgruppe 1 geprüften Substanzen der Fall ist. Auch dieses Verhalten spricht für einen über das Nebennierenmark laufenden Wirkungsweg der hyaluronidasehemmenden Agentien. Weiter ist hervorzuheben, daß Adrenalin und Noradrenalin in gleicher Dosis annähernd gleiche Wirkungen entfalten. Dieser Befund steht im Gegensatz zu anderen Effekten dieser beiden Nebennierenmarkkatecholamine. Oft ist nämlich ein vielfaches der Menge des einen Hormons erforderlich, um eine spezielle Wirkung des anderen damit erzielen zu können.

So ist z. B. die Wirkung des Noradrenalins auf die glatte Muskulatur, die Steigerung des O_2 Verbrauchs und auf den Blutzuckeranstieg wesentlich geringer als die der gleichen Menge Adrenalin⁸. Außerdem bringt Noradrenalin nach s. c. Injektion keine so extreme Gewebsblässe wie Adrenalin hervor und besitzt geringere Toxizität als dieses⁸. Weiter ist auffällig, daß niedrigere Dosen Adrenalin oder Noradrenalin bei adrenaletomierten Ratten früher zu einer maximalen Hemmung führen als hohe. Dieses Verhalten kann erst nach weiteren Versuchsreihen geklärt werden.

Schließlich ist zu erwähnen, daß ein hyaluronidasehemmender Effekt teilweise erst 15' nach i.v. Applikation sichtbar wird. Die bisher bekannten Effekte des Adrenalins sind zu diesem Zeitpunkt bereits abgeklungen, wie z.B. Registrierungen der Veränderung der Pupillenweite zeigen⁷. Die Ausgangsgröße der Pupillen war im Durchschnitt bei allen Tieren ca. 1,5 mm. Nach Injektion von 0,5 γ , 1 γ und 6 γ Adrenalin trat eine schnelle und extreme Pupillenerweiterung auf, die nach einigen Minuten wieder zurückging. Das Ausgangsmaß wurde bei 0,5 γ und 1 γ Adrenalin nach 5-10' und bei 6 γ Adrenalin 20-25' p.i. wieder erreicht. Entsprechend anders verhielt sich die Pupillenreaktion nach Arterenolinjektion. Daß Arterenol erst in höherer Dosierung den gleichen Wirkungseffekt wie Adrenalin her-

vorbringt, ist bekannt. Eine Ausnahme ist bei der Hemmung des Hyaluronidasespreadings zu verzeichnen, wie aus Versuchsgruppe 6 zu entnehmen ist.

Injektion von 0,5 γ und 1 γ führten zu keiner feststellbaren Pupillenreaktion. Erst eine Dosis von 6 γ brachte eine deutliche Erweiterung der Pupillen, die bereits nach einigen Minuten merklich abzunehmen begann und nach 20-25' den Ausgangswert wieder erreicht hatte.

Die Kontrolle der Pupillenweite zeigt also, daß die Hyaluronidasehemmung durch Adrenalin bzw. Noradrenalin erst nach Abklingen der "primären" Wirkung sichtbar wird. Dieser Befund deckt sich auch mit den Verhältnissen wie sie bei anderen pharmakologischen Wirkungen der Nebennierenmarkkatecholamine gefunden werden. Somit lassen die Untersuchungen erkennen, daß die vermutete Nebennierenmarkwirkung der hyaluronidasehemmenden Substanzen keine direkte Katecholaminwirkung ist. Es sind weiter unten mehrere Möglichkeiten der Wirkungsweise freigesetzter oder experimentell zugeführter Katecholamine zu diskutieren.

- 1) Jankowski, A.: Diss. München 1957
- 2) Bauke, A.: Diss. München 1962
- 3) Kiraly, E.: Diss. München 1961
- 4) Reindl, W.: Diss. München 1960
- 5) Schmidt, D.: Diss. München 1959
- 6) Krohn, H.: Diss. München 1963
- 7) Scheufele, R.: Diss. München 1958
- 8) Eichholtz, F.: Lehrbuch der Pharmakologie, Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1957

Adrenalindauerinfusion

Wie in Versuchsgruppe 6 dargestellt wurde, trat eine Hyaluronidasehemmung nach Adrenalin/Noradrenalin besonders bei adrenaletomierten Tieren nach einer Zeitspanne von ungefähr 15' p.i. auf, wobei jedoch nicht geklärt ist, ob der Eintritt der Hyaluronidasehemmung von einer gewissen Zeitspanne nach Beginn oder nach Beendigung der Injektion abhängig ist.

Bei der Prüfung der Pupillenreaktion nach Adrenalingabe konnte festgestellt werden, daß der hyaluronidasehemmende Mechanismus erst zu einem Zeitpunkt in Aktion tritt, wenn die primäre Wirkung der Medikamente, an der Pupillenweite gemessen, bereits abgeklungen ist.

Zur genauen Überprüfung der hier vorliegenden Verhältnisse dienten die folgenden Untersuchungen der Hyaluronidaseaktivität nach und während Adrenalindauerinfusion und Adrenalindauerinfusion mit zeitweiliger Dosiserhöhung, die zunächst an adrenaletomierten Tieren durchgeführt wurden ¹, um reaktive Einflüsse auf das Nebennierenmark und damit eine zusätzliche Katecholaminausschüttung, deren Wirkung das tatsächliche Ergebnis überdecken könnte, auszuschalten.

Analoge Versuche wurden mit zeitweiliger Dosiserhöhung während der Adrenalindauerinfusion durchgeführt, um aussagen zu können, ob ein Absinken des erhöhten Katecholaminspiegels auf das Normalniveau oder lediglich eine relative Niveaudifferenz für ein Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung verantwortlich gemacht werden kann.

Zu Vergleichszwecken wurden Adrenalindauerinfusionen dann auch bei intakten und hypophysektomierten Ratten durchgeführt. Man ging dabei von der Vermutung aus, daß eine etwaige zusätzliche Katecholaminausschüttung infolge der Adrenalininjektion durch die Adrenalinwirkung via Hypophyse $\rightarrow$ ACTH durch eine Nebennierenrindenhormon-Freisetzung zustandekommen könne. Außerdem war es wichtig, Dauerinfusionen mit physiologischer Kochsalzlösung durchzuführen, um einen evtl. Injektionseffekt ausschließen zu können.

Versuchsreihe 1: Adrenalindauerinfusion bei adrenaletomierten Ratten
Die Adrenalinanfängsdosis (1 γ /100 g) wurde im Verlauf einer Minute

daraufhin 0,5 γ /100 g/min über 45' Minuten injiziert ¹. Die Zeiten der Messungen und deren Ergebnisse sind aus Tabelle 43 ersichtlich.

Versuchsreihe 2: Adrenalindauerinfusion bei adrenalektomierten Ratten
mit zeitweiliger Dosiserhöhung

Der ersten Versuchsgruppe von adrenalektomierten Ratten wurde anfangs 6 γ Adrenalin/100 g/min im Verlauf von 10 Minuten injiziert. Dann erfolgte über 50 Minuten die weitere Injektion mit 0,5 γ /100 g Tier/min, danach eine erneute Gabe von 6 γ Adrenalin/100 g Tier/min innerhalb von 10 Minuten. Anschließend wurde bis 160 Minuten nach Versuchsbeginn die Dosis wieder auf 0,5 γ /100 g Tier/min gesenkt ¹. Versuchsanordnung und -ergebnisse sind aus Tabelle 44 und Abbildung 18 ersichtlich.

Versuchsreihe 3: Adrenalindauerinfusion bei intakten Ratten

In dieser Versuchsreihe sollte die Adrenalindauerinfusion an intakten Tieren in der gleichen Versuchsanordnung wie bei den adrenalektomierten Ratten wiederholt werden ¹. Siehe Tabelle 45 und Abbildung 19.

Versuchsreihe 4: Adrenalindauerinfusion bei hypophysektomierten Ratten

Die Versuchsanordnung war die gleiche wie in den vorangehenden Versuchen. Die Infusion wurde mit 1 γ /100 g Tier innerhalb einer Minute, i.v. injiziert, begonnen und mit 0,5 γ /100 g Tier/min über 120 Minuten fortgesetzt. Siehe Tabelle 46 und Abbildung 19.

Versuchsreihe 5: Dauerinfusion von physiologischer Kochsalzlösung
bei intakten Ratten

Die Versuchsanordnung bleibt dieselbe wie in den vorangehenden Versuchsreihen. Zu Beginn wurden 0,05 ml/100 g Tier, dann weiterhin 0,025 ml/100 g Tier/min physiol. Kochsalzlösung injiziert. Siehe auch Tabelle 47 und Abbildung 19.

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Adrenalin 1y/100g in 1 min dann 0,5y /100g/min	i.v.	15'	4	143	145	+ 2	-	237	234	- 3	-
		30'	4					237	236	- 1	-
		45'	4					237	240	+ 3	-
nach Absetzen		45'	4					237	198	-39	-

T a b e l l e 43

Einfluß von Adrenalindauerinfusionen bei i.v. Applikation auf
das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei adrenal-
ektomierten Ratten (nach S c h l i e r f ¹)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Adrenalin 6y/100g in 10 min 0,5y/100g /min als "Spitze" 0,6y/100 g dann 0,5y/100 g /min	i.v. "Spitze" -- nach	45'	4	135	136	+ 1		246	205	-41	2%
		25'	4					246	246	± 0	-
		55'	4	137	138	+ 1		246	242	- 4	-
		70'	4					235	214	-21	2%
		90'	4					235	226	- 9	-
		110'	4					235	228	- 7	-
nach Absetzen		45'	4					235	182	-53	1%
6y/100 g 0,5y/100 g /min. Als "Spitze": 3y/100 g 0,5y/100g /min	i.v. "Spitze" -- nach	45'	4	138	138	± 0		232	192	-40	2%
		0'	4					232	235	+ 3	-
		15'	4					232	228	- 4	-
		30'	4					232	225	- 7	-
		45'	4					232	192	-40	2%
		60'	4					232	204	-28	-

T a b e l l e 44

Einfluß von Adrenalindauerinfusionen bei i.v. Applikation mit zeitweiliger
Dosiserhöhung auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei
adrenalektomierten Ratten (nach S c h l i e r f ¹)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Adrenalin 1 γ /100 g 0,5 γ /100g /min	i.v.	45'	6	125	128	+ 3		223	182	-41	1%
		80'	6					223	200	-23	-
		120'	4	138	138	$\pm$ 0		229	191	-38	1%
		140'	4					229	202	-27	5%
		160'	4					229	173	-56	1%
		180'	4					229	176	-53	1%
		200'	4					229	191	-38	1%
		220'	4					229	168	-61	1%

T a b e l l e 45

Einfluß von Adrenalindauerinfusionen bei i.v. Applikation auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten (nach S c h l i e r f¹)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Adrenalin 1 γ /100 g 0,5 γ /100g /min	i.v.	45'	4	139	146	+ 7		245	232	-13	-
		80'	4					245	213	-32	2%
		120'	4					245	227	-18	-
		45'	4					245	196	-49	1%

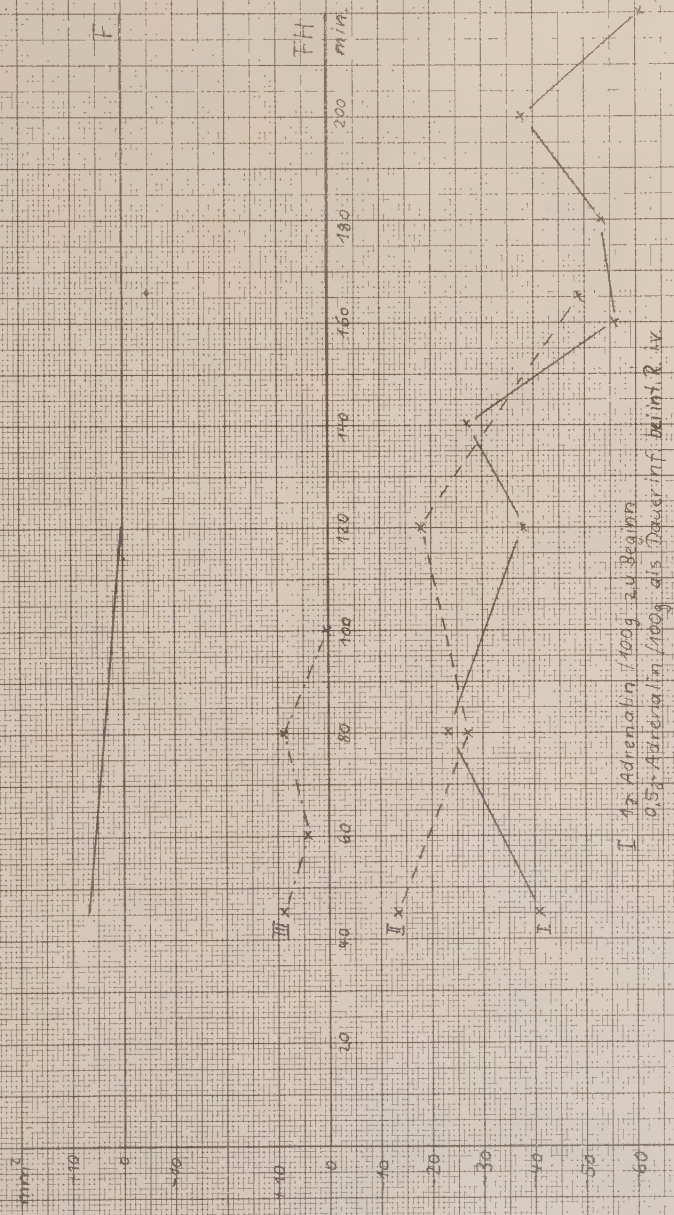
T a b e l l e 46

Einfluß von Adrenalindauerinfusionen bei i.v. Applikation auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei hypophysectomierten Ratten (nach S c h l i e r f¹)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
0,9%ige NaCl 0,05 ml /100 g dann 0,025ml /100g/min	i.v.	45'	4	137	136	- 1		235	244	9	-
		60'	4					235	239	+ 4	-
		80'	4					235	244	+ 9	-
		100'	4					235	235	$\pm$ 0	-

T a b e l l e 47

Einfluß von physiologischer Kochsalzlösung in Dauerinfusion i.v. auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten (nach S c h l i e r f¹)



- I 12 Adrenalin / 100g zu Beginn
0.5% Adrenalin / 100g als Dauerinf. bei int. R. iv
- II 10 Adrenalin / 100g zu Beginn
0.5% Adrenalin / 100g als Dauerinf. bei hypoglyk. R. iv
- III 0.05 ml physiol. Kochsalzlsg. zu Beginn
0.05 ml physiol. Kochsalzlsg. als Dauerinf. bei int. R. iv

Abb. 19

Besprechung der Ergebnisse:

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe zeigen, daß die bei einmaliger Adrenalingabe gefundene Hemmung der Hyaluronidaseaktivität 15 min p.i. bei adrenaletomierten Tieren ausbleibt bzw. erst 45 min nach Beendigung der Dauerinfusion zu beobachten ist. Damit läßt sich also sagen, daß der hyaluronidasehemmende Effekt eines Medikamentes nicht von dem Beginn, wohl aber von der Beendigung der Injektion abhängig ist, d.h. nicht die Erhöhung des Blutspiegels, sondern im Gegenteil ein Absinken desselben erforderlich ist, um eine Hyaluronidasehemmung deutlich zu machen.

Die an adrenaletomierten Ratten durchgeführte Dauerinfusion mit zeitweiliger Dosiserhöhung bestätigt im wesentlichen diese Annahme, denn die künstlich gesetzten Spitzen von 6 γ und 3 γ sind jeweils im Abstand von 45 bis 70 Minuten nach Injektion der erhöhten Dosis von einer signifikanten Hemmung gefolgt. Diese Latenzzeit entspricht den von S c h e u f e l e ² nach einmaliger Katecholaminapplikation in Abhängigkeit von der Dosis gefundenen Verhältnissen.

Gleichzeitig konnte durch die vorliegenden Ergebnisse S e l y e s ³ Stress-Theorie bestätigt werden, die besagt, daß die letale Adrenalin-dosis nach Gewöhnung durch längere Adrenalinzufuhr heraufgesetzt wird. In Vorversuchen wurden von den Ratten z.B. nur 1 γ /min i.v. injiziert, vertragen, während nach Adrenalin-dauerinfusion von 50 min diese Dosis auf 3 γ /min heraufgesetzt werden konnte.

Wie die Ergebnisse nach zeitweiliger Dosiserhöhung während der Adrenalin-dauerinfusion zeigen, ist für das Auftreten einer Hyaluronidasehemmung allein das relative Absinken des Katecholaminspiegels, nicht aber ein Absinken bis auf das Normalniveau nötig.

Im Gegensatz zu adrenaletomierten Tieren tritt bei intakten Ratten bereits während der Dauerinfusion eine deutliche Hemmung des Hyaluronidasespreadings auf.

Die mit physiologischer Kochsalzlösung durchgeführte Dauerinfusion unter den gleichen Bedingungen schließt dabei einen evtl. vermuteten Injektionseffekt aus.

Es bleibt also nur ein in der Nebenniere begründeter Faktor zu diskutieren, welcher nach den bisherigen Versuchsergebnissen nur in einer zusätzlichen Katecholaminausschüttung liegen könnte, die eine "Spitze" auf den bereits erhöhten Blutspiegel setzt und deren Abbau das für die Hyaluronidasehemmung erforderliche Absinken des Katecholaminblutspiegels bedingt.

Da auch bei hypophysektomierten Tieren bereits während der Infusion eine erhebliche Hemmung des Hyaluronidase-Spreadings auftrat, muß die ursprüngliche Ansicht, es könne sich dabei um eine Katecholaminfreisetzung auf Grund einer Nebennierenrindenaktivierung über die durch das zugeführte Adrenalin beeinflusste Hypophyse handeln, revidiert werden.

Für eine direkte Adrenalin- $\rightarrow$ NNR-Wirkung würde die von O k i n a k a ⁴ u.a. nach Adrenalingabe bei hypophysektomierten Hunden gefundene erhöhte Glucocorticoidkonzentration in den Nebennierenvenen sprechen, während M a l o r n y ⁵ bei Katzen nach Adrenalinzufuhr zusätzliche rhythmische Blutdrucksteigerungen sah, die er auf stoßweise Katecholaminausschüttungen aus dem Nebennierenmark zurückführte.

- 1) Schlierf, G.: Diss. München 1959
- 2) Scheufele, R.: Diss. München 1958
- 3) Selye, H.: Einführung in die Lehre vom Adaptionssyndrom
Georg Thieme-Verlag, Stuttgart 1953
- 4) Okinaka u. Mitarb.: zit. Hartling, H. u. Björkstén, G.:
Acta Endocrinolog. 22, 166 (1956)
- 5) Malorny, G.: Dtsch. med. Journ. 4, 29 (1953)

Untersuchungen zur Hyaluronidasehemmung durch Acetylcholin
und Dimethylaminoäthanolglutamat an adrenaletomierten Ratten

Die Ergebnisse der Versuchsgruppe 6 haben gezeigt, daß die Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin nicht direkt eine spreadinghemmende Wirkung zu haben scheinen. Zumindest tritt die Hyaluronidasehemmung erst zu einem Zeitpunkt auf, zu dem die Einwirkung auf die Pupillenweite bereits abgeklungen ist. Theoretisch könnten verschiedene Wirkungsmechanismen vorliegen. Einmal erscheint es möglich, daß erst die vagale Gegenregulation auf die Katecholaminwirkung die Hyaluronidasehemmung auslöst. Diese Ansicht wird von balneologischer Seite, z.B. von F e l l i n g e r¹ und Mitarbeitern¹, vertreten.

Es könnte auch lediglich ein Zeitfaktor nach Wirksamwerden des Adrenalin oder Noradrenalin vorliegen, der eine Latenzzeit nach Katecholamingabe erforderlich macht, um die Hyaluronidasehemmung sichtbar werden zu lassen.

Ferner könnten die Adrenalin- oder Noradrenalinmetaboliten die wirksamen hyaluronidasehemmenden Substanzen darstellen, so daß z.B. Adrenochrom erst in genügender Menge vorhanden sein muß, ehe eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität eintreten kann.

Schließlich könnte eine Katecholamindynamik insofern maßgebend sein, als erst das Absinken des Katecholaminblutspiegels nach vorangehender Steigerung durch Ausschüttung aus dem Nebennierenmark oder experimentelle Zufuhr die Hyaluronidasehemmung auslöst.

Um einen näheren Einblick in die hier vorliegenden Verhältnisse zu gewinnen, wurden in dieser Versuchsreihe zunächst Untersuchungen mit Acetylcholin, dem zur Verlängerung der Wirkung Prostigmin als Cholinesterasehemmer beigegeben wurde, durchgeführt. Mit dieser Versuchsanordnung wird primär eine vagale Reaktionslage geschaffen. Die Versuche wurden an adrenaletomierten Tieren durchgeführt, um etwaige gegenregulatorische sympathische Einflüsse zu vermeiden.

Die gleichen Untersuchungen wurden ebenfalls mit Dimethylaminoäthanolglutamat, dem nach A r i s² eine acetylcholinacceleratorische Wirkung zugeschrieben wird, durchgeführt.

Versuchsreihe 1: Acetylcholin /Prostigmin

Den adrenalectomierten Tieren wurden Acetylcholin, dem als Cholinesterasehemmstoff Prostigmin zugesetzt war, in 0,2 ml physiologischer Kochsalzlösung über vier Minuten in die freigelegte Femoralvene injiziert ³. Einzelheiten der Versuchsanordnung und -ergebnisse sind aus Tabelle 48 und Abbildung 20 ersichtlich.

Versuchsreihe 2: Dimethylaminoäthanolglutamat

Den adrenalectomierten Tieren wurde Dimethylaminoäthanolglutamat injiziert und nach den in Tabelle 48 angegebenen Zeiten der Einfluß auf die Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel bestimmt ⁴. Siehe auch Abbildung 20.

Versuchs- Substanz Dosis	Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyalase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Acetyl- cholin 0,2mg/ 100 g +Prostig- min 1y/ 100 g	i.v.	0	4	115	118	+ 3		202	196	- 6	-
		15'	4					202	199	- 3	-
		45'	4					202	192	-10	-
		60'	4					202	203	+ 1	-
Dimethyl- amino- äthanol- glutamat 0,5mg/ 100 g	i.v.	45'	5	116	120	+ 4		206	206	± 0	-
		60'	5	116	118	+ 2		206	209	+ 3	-

T a b e l l e 48

Einfluß von Acetylcholin und Dimethylaminoäthanolglutamat bei i.v. Applika-
tion auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei adrenal-
ektomierten Ratten (nach S c h l i e r f⁵ und K r a m e r⁴)

Besprechung der Ergebnisse:

Die Versuchsergebnisse zeigen, daß weder Acetylcholin noch Dimethyl-
aminoäthanolglutamat bei adenalektomierten Tieren eine Hemmung
des Hyaluronidasespreadings hervorrufen. Damit ist unwahrscheinlich,
daß vagale Einflüsse bzw. die vagale Gegenregulation auf eine
Katecholaminfreisetzung nach Applikation hyaluronidasehemmender
Substanzen eine Rolle in ihrem Wirkungsablauf spielt.

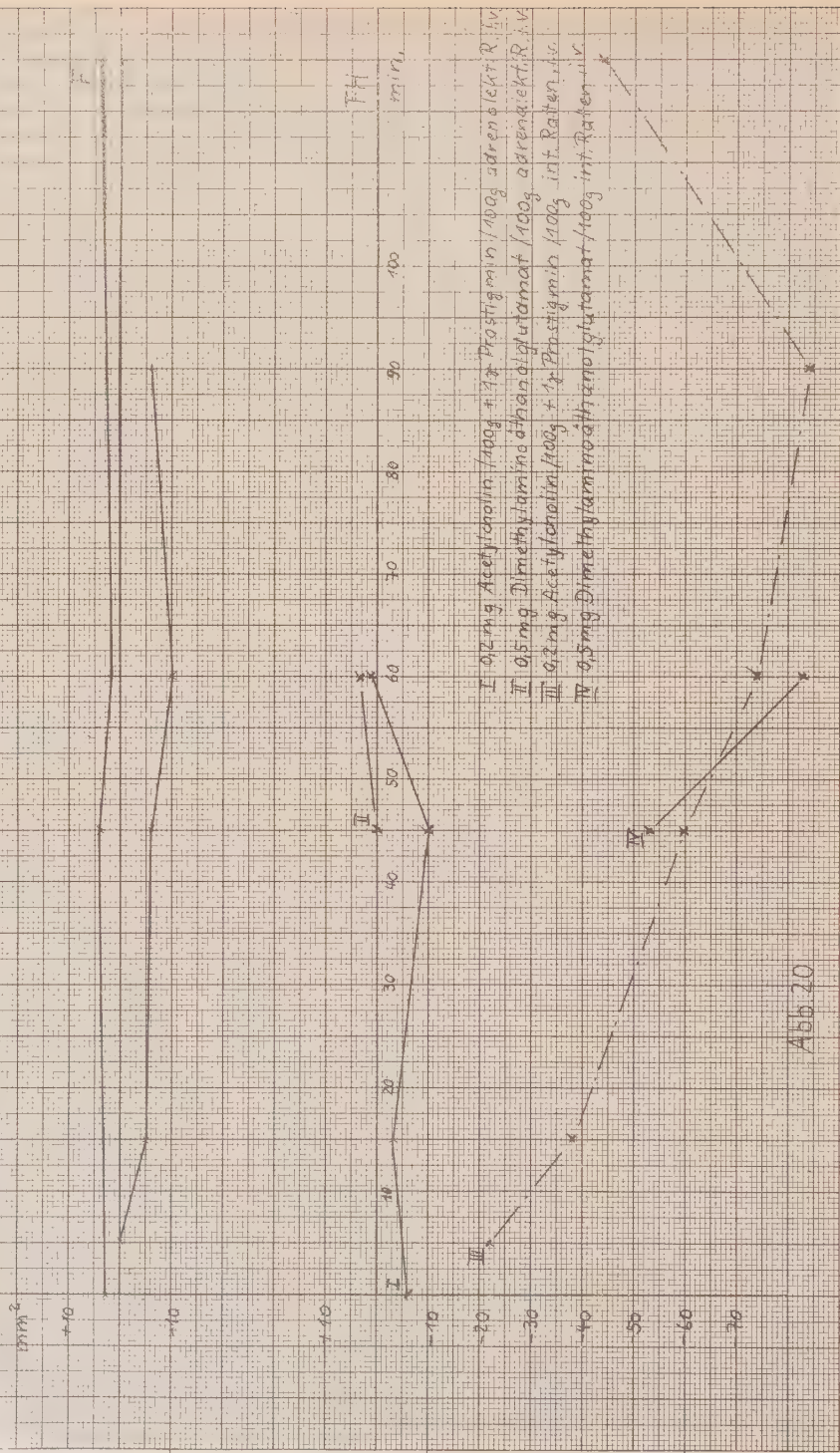


Abb. 20

- 1) Fellingner, K. u. Schmid, J.: Münch. med. Wschr. 97, 524 (1957)
- 2) Aris, J. G.: persönliche Mitteilung
- 3) Schlierf, G.: Diss. München 1959
- 4) Kramer, M. J.: Diss. München 1959

Acetylcholin und Dimethylaminoäthanolglutamat bei
intakten Ratten

In Versuchsreihe 8 war der Einfluß von Acetylcholin+Prostigmin (als Cholinesterasehemmer) und Dimethylaminoäthanolglutamat auf das Hyaluronidase-Spreading bei adrenaletomierten Ratten geprüft worden, um zu klären, ob das Prinzip der Hyaluronidasehemmung auf einer vegetativen Gegenregulationsphase nach Katecholaminausschüttung beruht. Da in diesen Versuchen keine Hyaluronidasehemmung sichtbar gemacht werden konnte, wurde eine vagale Reaktionslage als Vorbedingung der Hyaluronidasehemmung vorerst ausgeschlossen.

Erst die Ergebnisse von M a r q u a r d t und Mitarbeitern ¹, die eine deutliche antiphlogistische Wirkung nach Acetylcholin - allerdings bei intakten Ratten - fanden, machten weitere Untersuchungen in dieser Hinsicht nötig, da nach D o m e n j o z ² der hyaluronidasehemmende und antiphlogistische Effekt auf gleicher Wirkungsweise zu beruhen scheinen.

Es sollten also die Verhältnisse der Hyaluronidasehemmung bei intakten Ratten nach Acetylcholin+Prostigmin-bzw. Dimethylamino-äthanolglutamat-Applikation in der folgenden Versuchsreihe untersucht werden ³.

Die Versuchsanordnung blieb die gleiche wie in Versuchsgruppe 8, es wurden lediglich intakte Ratten zur Hyaluronidaseaktivitätsbestimmung herangezogen. Siehe Tabelle 49 und Abbildung 20.

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Acetyl- cholin 0,2 mg/ 100 g +Prostig- min 1g/100 g in 0,2 ml phys.NaCl	i.v.	15'	15	110	105	- 5		207	169	-38	1%
		45'	15	109	107	- 2		206	146	-60	1%
		45'	6	115	109	- 6		209	151	-58	1%
		60'	15	110	103	- 7		207	133	-74	1%
		60'	6	115	105	-10		209	133	-76	1%
		90'	6	115	109	- 6	5%	208	124	-84	1%
		120'	6	115	119	+ 4		208	164	-44	1%
Dimethyl- amino- äthanol- glutamat 0,5 mg/ 100 g	i.v.	45'	6	116	110	- 6	5%	194	141	-53	1%
		60'	6	116	106	-10	1%	194	111	-83	1%

T a b e l l e 49

Einfluß von Acetylcholin und Dimethylaminoäthanolglutamat bei i.v. Appli-
kation auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei in-
takten Ratten (nach K r a m e r ³⁾)

Desprechung der Ergebnisse:

Im Gegensatz zu dem an adrenaletomierten Ratten nach Acetylcholin+
Prostigmin- und Dimethylaminoäthanolglutamatapplikation erhobenen
Befunden, tritt bei intakten Tieren unter diesen Substanzen eine
deutliche Hyaluronidasehemmung auf. Demnach muß angenommen werden,
daß Acetylcholin+Prostigmin und Dimethylaminoäthanolglutamat zunächst
eine reaktive Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark be-
wirken.

- 1) Marquardt, P., Meyer, H. J., Schumacher, H.: Arzneimittelforsch.
7, 457 (1957)
- 2) Domenjoz, R.: Arch. exp. Path. Pharmacol. 255, 14 (1955)
- 3) Kramer, H. J.: Diss. München 1959

Blockierung der Hyaluronidasehemmung durch Adrenochrom
bei intakten und adrenaletomierten Ratten

In dieser Versuchsgruppe soll der Einfluß des Adrenochroms, eines Oxydationsproduktes des Adrenalins, auf das Hyaluronidasespreading geklärt werden. Zur i.v. Injektion von Adrenochrom wurde eine Lösung verwandt, in der 4 mg Adrenochrom in 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst waren.

Versuchsreihe 1

Es wurden den Tieren jeweils 1 γ Adrenochrom/100 g Tier bzw. 6 γ Adrenochrom/100 g Tier verabreicht und zu den in Tab. 50 bis 52 angegebenen Zeiten die Ausbreitung der Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln bestimmt ¹.

Als Ergänzungsversuche zur Versuchsgruppe 12 und 13 wurde der Einfluß von Adrenochrom auf die Hyaluronidaseaktivität unter Ergotamintartrat als Adrenolyticum und unter Pendiomid als Ganglienblocker geprüft. Diese Untersuchungen erfolgten sowohl an intakten als auch an adrenaletomierten Ratten ^{1, 2, 3}. Siehe Tab. 50-52 und Abb. 21 und 22.

Substanz Dosis	Versuchs-		N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
	Appli- kation	Zeit nach Applik.		vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Adreno- chrom 1y/100g	i.v.	0'	14	140	139	- 1	-	221	220	- 1	-
		15'	14	140	136	- 4	-	221	195	-26	1%
		45'	12	134	135	+ 1	-	227	224	- 3	-
		90'	12	134	132	- 2	-	227	196	-31	1%
Adreno- chrom 6y/100g	i.v.	0'	8	163	161	- 2	-	263	253	-10	5%
		15'	8	163	143	-20	5%	263	191	-72	0,1%
		45'	8	160	152	- 8	5%	263	250	-13	1%
		90'	8	160	135	-25	1%	263	185	-78	0,1%
Adreno- chrom 6y/100g 30'nach Ergotam. 0,8mg/ 100g	i.v.	15'	5	158	156	- 2	-	262	221	-41	1%
		90'	5	158	143	-15	-	262	213	-49	1%
Adreno- chrom 6y/100g 30'nach Pendiom. 5mg/ 100g	i.v.	15'	5	168	157	-11	-	279	265	-14	5%
		90'	5	168	153	-15	-	279	253	-26	5%

T a b e l l e 50

Einfluß von Adrenochrom bei i. v. Applikation auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten
(nach B a t i s w e i l e r ¹⁾)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyalase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Adreno- chrom 6γ/100g adren. Ratten	i.v.	0'	6	143	134	- 9	1%	237	217	-20	0,1%
		15'	6	143	126	-17	0,1%	237	199	-38	0,1%
		45'	6	143	130	-13	0,1%	239	226	-13	0,1%
		90'	6	143	125	-18	0,1%	239	219	-20	0,1%
Adreno- chrom 6γ/100g und Pend. 5mg/100g 30' nach Pendiom. 5mg/100g int. Rat.	i.v.	0'	6	137	126	-11	0,1%	227	195	-32	0,1%
		15'	6	137	116	-21	0,1%	227	167	-60	0,1%
		45'	6	137	122	-15	0,1%	218	181	-37	0,1%
		90'	6	137	109	-28	0,1%	218	159	-59	0,1%

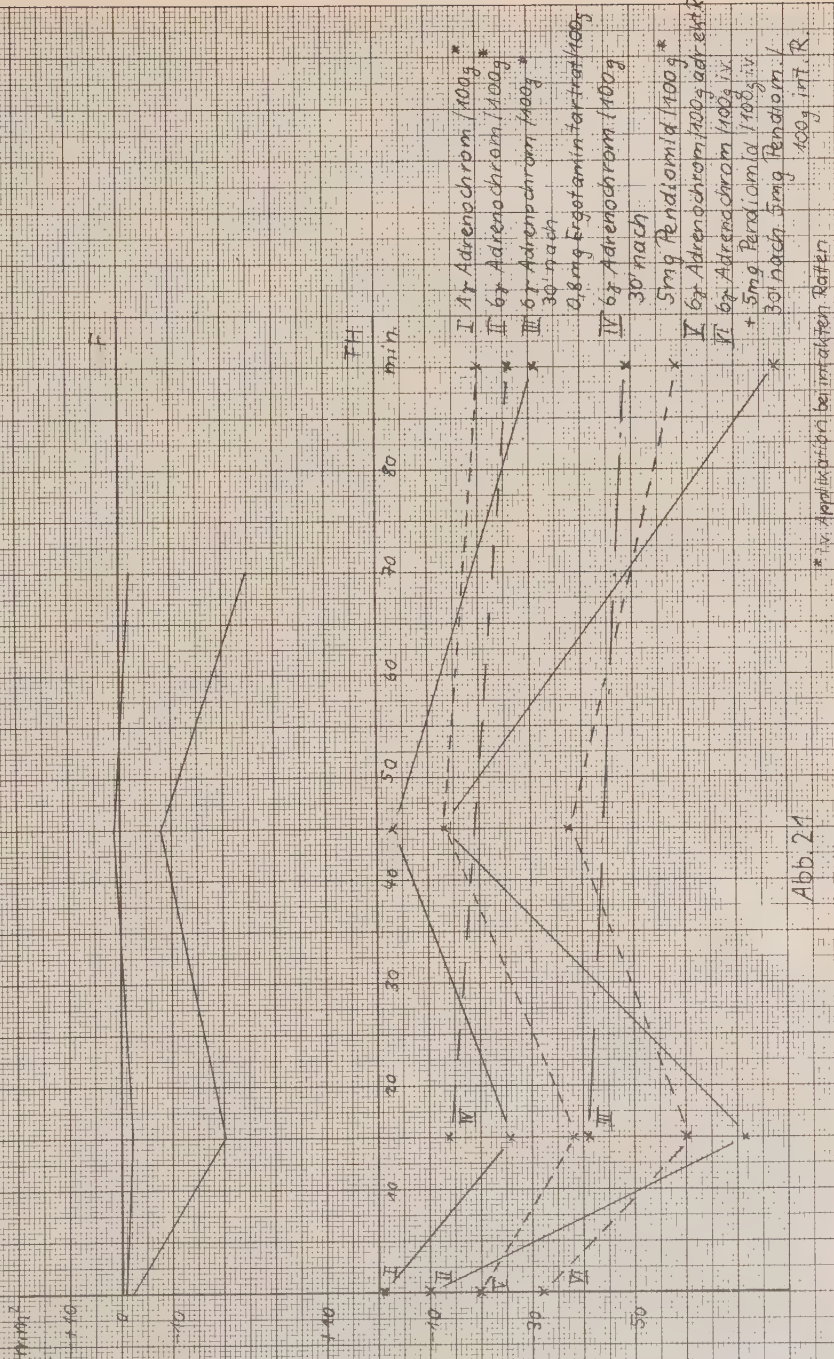
T a b e l l e 51

Einfluß von Adrenochrom bei i.v. Applikation auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei intakten und adrenaletomierten Ratten (nach S c h m i t t ²)

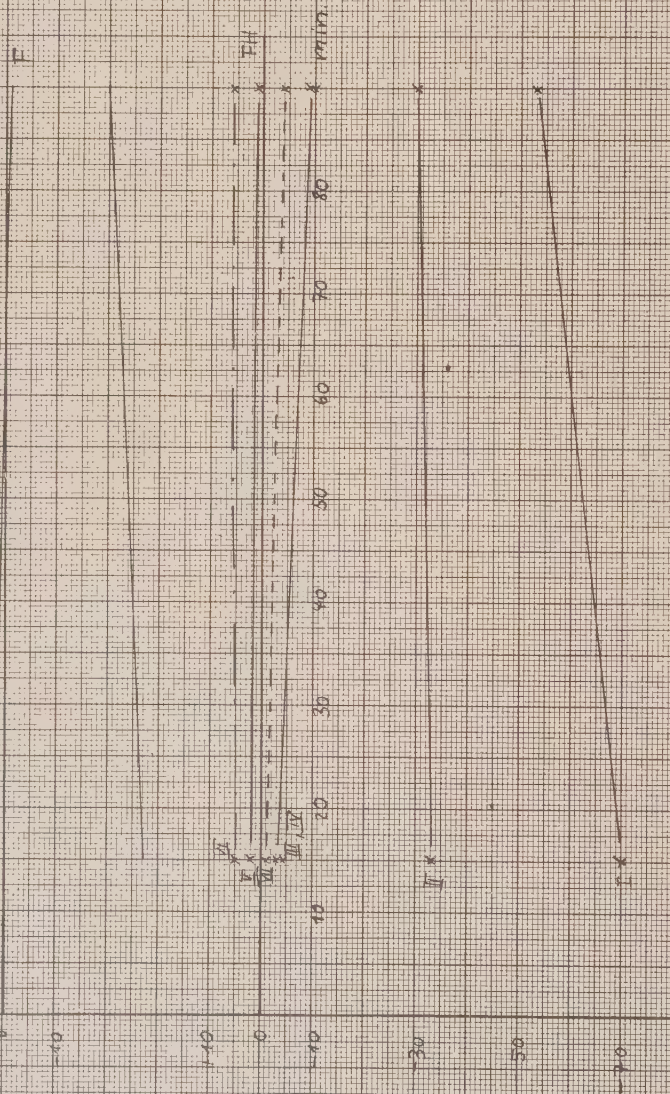
Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Adreno- chrom 6y/100g intakte Ratten	i.v.	15'	6	133	120	-13	0,1%	216	147	-69	0,1%
		90'	6	133	124	- 9	1%	216	163	-53	0,1%
Adreno- chrom 6y/100g 30' nach Pendiomid 5mg/Tier int.Ratt.	i.v.	15'	6	154	127	-27	0,1%	227	194	-33	0,1%
	i.v.	90'	6	154	134	-20	0,1%	227	197	-30	0,1%
Adreno- chrom 6y/100g adrenal- ekt.Rat.	i.v.	15'	6	131	133	+ 2	-	221	218	- 3	-
		90'	6	131	130	- 1	-	221	227	+ 6	-
Adreno- chrom 6y/100g 30' nach Pendiomid 5mg/Tier adrenal- ekt.Rat.	i.v.	15'	6	146	147	+ 1	-	256	252	- 4	-
	i.v.	90'	6	146	139	- 7	-	256	246	-10	5%
Adreno- chrom 6y/100g 20' nach Ergotamin 0,8mg/100g int.Ratt.	i.v.	15'	6	147	142	- 5	-	240	239	- 1	-
	s.c.	90'	6	147	144	- 3	-	240	244	+ 4	-

T a b e l l e 52

Einfluß von Adrenochrom auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei intakten und adrenalektomierten Ratten (nach
S c h u l t z e ³⁾)



- I 6x Adrenochrom 100g int. R. i.v.
- II 6x Adrenochrom 100g 30' nach 5mg Pendiomid 100g int. R. i.v.
- III 6x Adrenochrom 100g adrenalekt. Raten i.v.
- IV 6x Adrenochrom 100g 30' nach 5mg Pendiomid 100g adrenalekt. R. i.v.
- V 6x Adrenochrom + 5mg Pendiomid 100g adrenalekt. R. i.v.
- VI 6x Adrenochrom 100g adrenalekt. Raten i.v.
- VII 6x Adrenochrom 100g 20' nach 0.8mg Ergotamin tartrat 100g i.v.



Besprechung der Ergebnisse:

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß das Adrenochrom als Abbau-
produkt des Adrenalins einen hemmenden Einfluß auf das Hyaluroni-
dase-Spreading, sowohl bei intakten als auch adrenaletomierten
Tieren ausübt. Dabei ist es in der Dosierung von 6 γ /100 g Tier
wirksamer als in der von 1 γ /100 g Tier.

Unter Pendiomid verliert das Adrenochrom seine hyaluronidasehemmende
Eigenschaft, nicht aber durch Ergotamin.

Deshalb ist auch, im Vergleich zu Adrenalin, ein zu diskutierender
Wirkungsablauf über eine Katecholaminfreisetzung aus dem Neben-
nierenmark unwahrscheinlich.

Es ist anzunehmen, daß Adrenolytica das pharmakologisch aktive
Adrenalin unwirksam machen, nicht aber den hyaluronidasehemmenden
Effekt des pharmakologisch inaktiven Adrenochroms beeinflussen.

- 1) Batisweiler, G.: Diss. München 1962
- 2) Schmitt, H.: Diss. München 1961
- 3) Schultze, B.: Diss. München 1964

Bestimmung des Katecholamingehaltes der Nebennieren unter
dem Einfluß verschiedener Substanzen

Da nach den vorangehend geschilderten Versuchen eine Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark angenommen wurde, soll versucht werden, diese Freisetzung durch Bestimmungen des Katecholamingehaltes der Nebennieren zu erfassen.

Versuchsreihe 1

In dieser Versuchsreihe wurde Acetylsalicylsäure in 1%iger Natriumbicarbonicum-Lösung s.c. appliziert und daraufhin der Katecholamingehalt beider Nebennieren geprüft ¹. Die Ergebnisse sind in Tabelle 53 dargelegt.

Versuchsreihe 2

Es wurde der Katecholamingehalt der Nebennieren nach s.c. Applikation von Phenylbutazon bestimmt ². Versuchsanordnung und Ergebnisse sind aus Tabelle 54 ersichtlich.

Versuchsreihe 3

Den Tieren wurde Cestronsulfat injiziert und zu den in Tabelle 55 aufgeführten Zeiten der Katecholamingehalt der Nebennieren ermittelt ³.

Versuchsreihe 4

Zur Bestimmung des Katecholamingehaltes der Nebennieren nach Applikation von Glucocorticoiden wurde als Substanz Hydrocortison gewählt, da zur Zeit der Versuche noch kein wasserlösliches i.v. applizierbares Corticoid zur Verfügung stand. Hydrocortison wurde in 50%igem Äthylalkohol gelöst und in einer Dosis von 5 mg (1 ccm alkoholische Lösung)/100 g Tier, verdünnt mit 4 ccm physiol. NaCl, s.c. appliziert ⁴. Siehe auch Tabelle 56.

Versuchsreihe 5

Es soll der Katecholamingehalt der Nebennieren nach Applikation von: Neydhartinger Moorschwebstoff 1:500 (30' bei 35°C) und Neydhartinger Moorschwebstoff 1:500 (60' bei 35°C) ⁵, Reichenhaller Moorbrei 3:4 (30' bei 35°C), Reichenhaller Moorschwebstoff 1:500 (30' bei 35°C) ⁶, Wurzacher Moor (30' bei 35°C) ⁷ zu verschiedenen Zeitpunkten post applicationem bestimmt werden (siehe Tabelle 57-60).

Versuchsreihe 6

Es soll der Katecholamingehalt der Nebennieren nach Applikation von 30 Minuten währenden Schwefelbädern an intakten und hypophysektomierten Ratten untersucht werden. Versuchszeiten und Ergebnisse sind in Tab. 61 und 62 dargelegt ⁸.

Versuchsreihe 7

Der Gehalt der Nebennieren an Katecholaminen wurde zu den in Tabelle 63 angeführten Zeitpunkten nach i.p. Applikation von Chloräthylbenzylmethoxazon, in 1%igem Tyloseschleim suspendiert, bestimmt ⁹.

Versuchsreihe 8

In 1%igem Tyloseschleim suspendiertes Nicopyron wurde den Tieren i.p. injiziert und daraufhin zu den in Tabelle 64 angegebenen Zeitpunkten die Bestimmung des Katecholamingehaltes der Nebennieren durchgeführt ¹⁰.

Versuchsreihe 9

In dieser Versuchsreihe sollte der Einfluß des Chloroquin auf den Katecholamingehalt der Nebennieren geprüft werden. Den Tieren wurde in Äthernarkose die Substanz, 5 mg Resochin, s.c. appliziert und zu den in Tabelle 65 angegebenen Zeiten die Katecholaminbestimmung vorgenommen ¹¹.

Versuchsreihe 10

Um den Einfluß der Versuchsbedingungen ohne Gabe einer Versuchssubstanz und insbesondere die Beeinflussung durch die Narkose zu prüfen, wurde der Katecholamingehalt in Äther- bzw. Evipannarkose untersucht. In den oben erwähnten Katecholaminbestimmungen wurden die Tiere in Evipannarkose gehalten, so daß vergleichsweise die Bestimmungen in Evipannarkose ohne Gabe einer Prüfsubstanz von Bedeutung sind ¹². Einzelheiten der Versuchsanordnung und die Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind aus Tabelle 66 zu entnehmen.

	Leer	30'	120'	20'	30'	60'	90'	120'	180'
		nach NaCl		nach Acetylsalicylsäure					
N	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Katecholamin- gehalt beider NN in μ /100 g Tier	22,474	22,259	19,138	19,446	18,413	18,808	19,193	15,695	19,987

	Leer wert	30'	120'	20'	30'	60'	90'	120'	180'
		nach NaCl		nach Acetylsalicylsäure					
Leerwert		0,215	3,336	3,028	4,061	3,666	3,281	6,779	2,487
30' NaCl	-		3,121	2,813	3,846	3,451	3,066	6,564	2,272
120' NaCl	1%	1%		0,308	0,725	0,330	0,055	3,443	0,849
20'	1%	5%	-		1,033	0,638	0,253	3,751	0,514
30'	0,1%	0,1%	-	-		0,395	0,780	2,718	1,574
60'	1%	1%	-	-	-		0,385	3,113	1,179
90'	1%	1%	-	-	-	-		3,498	0,794
120'	0,1%	0,1%	1%	0,1%	5%	1%	1%		4,292
180'	5%	5%	-	-	-	-	-	0,1%	

T a b e l l e 53

Katecholamingehalt der Nebennieren und Matrix der Mittelwertsdifferenzen
nach Acetylsalicylsäure s.c. bei intakten Ratten (nach v. K u e p a c h ¹⁾)

Leerwert	30'	60'	90'	120'	150'	180'	210'	240'	300'	
nach 10 mg Phenylbutazon/100 g Tier s.c.										
N	6	5	5	5	5	5	5	5	5	
Katecholamin- gehalt beider NN in μ /100 g Tier	20,6	26,36	20,04	19,30	23,96	24,92	28,98	27,04	19,76	20,24

	L	30'	60'	90'	120'	150'	180'	210'	240'	300'
L	-	+5,76	-0,56	-1,30	+3,36	+4,32	+8,38	+6,44	-0,84	-0,36
30'	1%	-	-6,32	-7,06	-2,40	-1,44	+2,62	+0,68	-6,60	-6,12
60'	-	1%	-	-0,74	+3,92	+4,88	+8,94	+7,00	-0,28	+0,20
90'	-	1%	-	-	+4,66	+5,62	+9,68	+7,74	+0,46	+0,94
120'	1%	-	1%	1%	-	+0,96	+5,02	+3,08	-4,20	-3,72
150'	1%	-	1%	1%	-	-	+4,06	+2,12	-5,16	-8,74
180'	1%	5%	1%	1%	1%	1%	-	-1,94	-9,22	-8,74
210'	1%	-	1%	1%	5%	-	-	-	-7,28	-6,80
240'	-	1%	-	-	1%	1%	1%	1%	-	+0,48
300'	-	1%	-	-	1%	1%	1%	1%	-	-

T a b e l l e 54

Katecholamingehalt der Nebennieren und Matrix der Mittelwertsdifferenzen nach Phenylbutazon bei intakten Ratten s.c. (nach B i e c h e l e²)

	Leer wert	120' nach Wasser	30'	60' nach 50	90' y	120' Gestransulfat	150'	180'	210'	240'
						/100 g Tier s.c.				
N	6	6	5	5	5	5	5	5	6	5
Katecholamin- gehalt beider NN in y/100 g Tier	20,6	19,1	23,1	22,9	23,6	26,1	22,2	22,8	24,9	19,6

	L	120'W	30'	60'	90'	120'	150'	180'	210'	240'
L		-1,5	+2,5	+2,3	+3,0	+5,5	+1,6	+2,2	+4,3	-1,0
120'W	-		+4,0	+3,8	+4,5	+7,0	+3,1	+3,7	+5,8	+0,5
30'	-	5%		-0,2	+0,5	+3,0	-0,9	-0,3	+1,8	-3,5
60'	-	5%	-		+0,7	+3,2	-0,7	-0,1	+2,0	-3,3
90'	-	2%	-	-		+2,5	-1,4	-0,8	+1,3	-4,0
120'	1%	1%	-	-	-		-3,9	-3,3	-1,2	-6,5
150'	-	-	-	-	-	5%		+0,6	+2,7	-2,6
180'	-	5%	-	-	-	-	-		+2,1	-3,2
210'	2%	1%	-	-	-	-	-	-		-5,3
240'	-	-	-	-	-	1%	-	-	1%	

T a b e l l e 55

Katecholamingehalt der Nebennieren und Matrix der Mittelwertsdifferenzen nach Gestransulfat s.c. bei intakten Ratten (nach S c h u b ³⁾)

	Leer wert	30' nach 5 mg	60' Hydrocortison/100 g	90'	120'	180'	120' nach Alkohol
N	10	10	10	10	10	10	10
Katecholamin- gehalt beider NN in μ /100 g Tier	22,474	21,238	19,058	18,646	15,892	20,117	19,841

	L	120' Alk.	30'	60'	90'	120'	180'
L		1,63	1,23	3,41	3,82	6,58	2,35
120' Alk.	5%		1,40	0,78	1,19	3,95	0,28
30'	-	-		2,18	2,59	5,35	1,12
60'	1%	-	5%		0,41	3,17	1,06
90'	0,1%	-	5%	-		2,76	1,47
120'	0,1%	0,1%	0,1%	1%	5%		4,23
180'	5%	-	-	-	-	1%	

T a b e l l e 56

Katecholamingehalt der Nebennieren und Matrix der Mittelwertsdifferenzen nach Hydrocortison und Alkohol bei s.c. Applikation bei intakten Ratten (nach Wiesmüller⁴)

N	Leerwert	0' n. 30' Wasser		0'		15' nach 30' Neydhartinger Moorschwebstoff		30'		60'		90'		120'		180'		0' nach 60' Neydh. Moor	
		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Katecholamin- gehalt beider NN in g/100 g Tier	22,474	22,8		21,221	29,333	19,422	21,149	23,379	19,221	17,827						19,081	25,520		

L	0' W	120' W	0'	15'	30'	60'	90'	120'	180'	0' (60' Moor)
L	0,326	1,253	6,859	3,052	1,325	6,905	3,253	4,647	3,392	3,046
0' W	-	1,579	6,533	3,378	1,651	6,579	3,579	4,973	3,719	2,720
120' W	-	-	8,112	1,799	0,072	2,158	2,000	3,394	2,140	4,299
0'	1%	1%	1%	9,911	8,184	5,954	10,112	11,506	10,252	3,813
15'	1%	-	1%	1,727	1,957	0,201	1,595	6,341	6,098	6,371
30'	-	-	1%	-	2,230	1,928	3,322	2,068	4,298	2,141
60'	-	-	1%	1%	-	4,158	5,552	1,394	0,140	6,299
90'	1%	1%	1%	-	1%	-	-	-	1,254	7,693
120'	1%	1%	1%	-	1%	1%	-	-	-	6,439
180'	1%	1%	1%	-	1%	-	-	-	-	-
0' 60' Moor	1%	5%	1%	1%	-	1%	1%	1%	1%	1%

T a b e l l e 57

Katecholamingehalt der Nebennieren und Matrix der Mittelwertsdifferenzen nach Badeapplikation von Neydhartinger Moorschwebstoffbädern und Wasserbädern bei intakten Ratten (nach K a i s e r ⁵⁾)

N	Leerwert		0'		90'		120'		0'		15'		30'		60'		90'		120'		150'		180'	
	4	4	4	4	4	4	10	4	4	4	4	4	5	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
nach Reichenhaller Moorbrei																								
Katecholamin- gehalt beider NN in γ /100 g Tier	21,3	21,2	21,5	21,2	27,6	18,5	18,7	24,6	17,9	27,7	18,7	20,1												
L	L	0'W	90'W	120'W	0'	15'	30'	60'	90'	120'	150'	180'												
0'W	-	-0,1	+0,2	-0,1	+6,3	-2,8	-2,6	+3,3	-3,4	+6,4	-2,6	-1,2												
90'W	-	-	+0,3	0,0	+6,4	-2,7	-2,5	+3,4	-3,3	+6,5	-2,5	-1,1												
120'W	-	-	-	-0,3	+6,1	-3,0	-2,8	+3,1	-3,6	+6,2	-2,8	-1,4												
0'	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	+6,4	-2,7	-2,5	+3,4	-3,3	+6,5	-2,5	-1,1												
15'	1%	1%	1%	1%	0,1%	-9,1	-8,9	-3,0	-9,7	+0,1	-8,9	-7,5												
30'	1%	1%	1%	1%	0,1%	-	+0,2	+6,1	-0,6	+9,2	+0,2	+1,6												
60'	0,1%	0,1%	1%	0,1%	1%	0,1%	0,1%	+5,9	-0,8	+9,0	0,0	+1,4												
90'	0,1%	1%	0,1%	1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	-6,7	+3,1	-5,9	-4,5												
120'	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	-	0,1%	0,1%	1%	0,1%	+9,8	+0,8	+2,2												
150'	1%	5%	1%	1%	0,1%	-	1%	0,1%	-	0,1%	-9,0	-7,6												
180'	-	-	-	-	0,1%	-	-	0,1%	5%	0,1%	-	+1,4												

Tabelle 58

Katecholaminbehalt der Nebennieren und Matrix der Mittelwertsdifferenzen nach Reichenhaller Moor- und Wasserbädern bei intakten Ratten (nach Mathies und v. Werther 6)

	0'	30'	60'	90'	120'	180'
	nach Reichenhaller Moorschwebstoff					
N	4	4	4	4	4	4
Katecholamin- gehalt beider NN in γ /100 g Tier	18,8	18,6	27,1	19,9	23,3	20,0

	L	0'W	90'W	120'W	0'	30'	60'	90'	120'	180'
L		-0,1	+0,2	-0,1	-2,5	-2,7	+5,8	-1,4	+2,0	-1,3
0'W	-		+0,3	0,0	-2,4	-2,6	+5,9	-1,3	+2,1	-1,2
90'W	-	-		-0,3	-2,7	-2,9	+5,6	-1,6	+1,8	-1,5
120'W	-	-	-		-2,4	-2,6	+5,9	-1,3	+2,1	-1,2
0'	5%	5%	1%	1%		-0,2	+8,3	+1,1	+4,5	+1,2
30'	1%	1%	1%	1%	-		+8,5	+1,3	+4,7	+1,4
60'	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%		-7,2	-3,8	-7,1
90'	-	-	-	-	-	-	0,1%		+3,4	+0,1
120'	5%	5%	-	5%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%		-3,3
180'	-	-	-	-	-	-	0,1%	-	1%	

T a b e l l e 59

Katecholamingehalt der Nebennieren und Matrix der Mittelwertsdifferenzen nach Reichenhaller Moorschwebstoffbädern bei intakten Ratten (nach Mathies und v. Werther ⁶⁾)

	Leerwert	30' n. Wasserb.	60' 30' 37°C	90' 37°C	120'	30' n. Wurz. Moor	60'	90' 30' 37°C	120'
N	9	5	5	5	5	4	5	4	5
Katecholamingehalt beider NN in μ /100 g Tier	22,7	20,50	21,74	22,28	19,96	15,34	17,12	16,10	17,67
		Mittelwert: 21,12				Mittelwert: 16,65			
		Mittelwert: 21,62							

	Leerwert	Moorbad	Wasserbad
Leerwert		-6,07	-1,60
Moorbad	0,1%		-4,47
Wasserbad	-	0,1%	

T a b e l l e 60

Katecholamingehalt der Nebennieren und Matrix der Mittelwertsdifferenzen nach Wurzacher Moor- und Wasserbädern bei intakten Ratten
(nach V o g e l ⁷)

Leerwert	0'		15'		30'		60'		90'		120'		180'	
	n. Wasserbad		nach Schwefelbad 1:3300, 30' bei 37°C											
N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Katecholamin- gehalt beider NN in g/100 g Tier	23,80	24,41	24,53	25,77	28,75	28,85	32,00	18,53	21,25	23,07				

L	0'W		120'W		0'		15'		30'		60'		90'		120'		180'	
L	0,61	0,73	1,97	1,97	4,95	5,05	8,20	-5,27	-2,55	-0,73								
0'W	-	0,12	1,36	1,36	4,34	4,44	7,59	-5,88	-3,16	-1,34								
120'W	-	-	1,24	1,24	4,22	4,32	7,47	-6,00	-3,28	-1,46								
0'	-	-	-	-	2,98	3,08	6,23	-7,24	-4,52	-2,70								
15'	1%	1%	5%	5%	-	0,10	3,25	-10,22	-7,50	-5,78								
30'	1%	1%	1%	1%	5%	5%	3,15	-10,32	-7,60	-5,78								
60'	1%	1%	1%	1%	1%	1%	-	-13,47	-10,75	-8,93								
90'	1%	1%	1%	1%	1%	1%	1%	1%	2,72	4,54								
120'	-	5%	5%	1%	1%	1%	1%	1%	5%	1,82								
180'	-	-	-	-	1%	1%	1%	1%	-	-								

Tabelle 61

Katecholamingehalt der Nebennieren und Matrix der Mittelwertsdifferenzen nach Schwefel- und Wasserbädern bei intakten Ratten (nach Helmbold⁸⁾)

	Leer- wert	60' nach Wasserbad	90' n. Schwefelbad	60' n. Schwefelbad	90' 37°C
N	6	10	10	4	4
Katecholamin- gehalt beider NN in μ /100 g Tier	22,97	24,47	25,21	27,50	28,48

	L	60'S	90'S	60'W	90'W
L		4,53	5,51	1,50	2,24
60' S	-		1,98	-3,03	-2,29
90'S	-	-		-4,01	-3,27
60'W	-	-	-		0,74
90'W	-	-	-	-	

T a b e l l e 62

Katecholamingehalt der Nebennieren und Matrix der Mittelwerts-
differenzen nach Schwefel- und Wasserbädern bei hypophysektomierten Ratten (nach H e l m b o l d ⁸⁾)

N	Leerwert	20'	30'	60'	90'	120'	150'	180'	210'	240'	270'	300'
		nach 20 mg Chloräthylbenzmethoxazon /100 g Tier i.p.										
	6	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Katecholamin- gehalt beider NN in γ /100 g Tier	20,0	23,3	20,1	15,9	16,7	18,6	14,9	21,7	17,9	19,1	20,8	18,2

L	20'	30'	60'	90'	120'	150'	180'	210'	240'	270'	300'
L	+3,3	+0,1	-4,1	-3,3	-1,4	-5,1	+1,7	-2,1	-0,8	+0,8	-1,8
20'	5%	-3,2	-7,4	-6,6	-4,7	-8,4	-1,6	-5,4	-4,1	-2,5	-5,1
30'	-	5%	-4,2	-3,4	-1,5	-5,2	+1,6	-2,2	-0,9	+0,7	-1,9
60'	1%	0,1%	5%	+0,8	+2,7	-1,0	+5,8	+2,0	+3,3	+4,9	+2,3
90'	5%	0,1%	5%	-	+1,9	-1,8	+5,0	+1,2	+2,5	+4,1	+1,5
120'	-	1%	-	-	-	-3,7	+3,1	-0,7	+0,6	+2,2	-0,4
150'	0,1%	0,1%	1%	-	5%	-	+6,8	+3,0	+4,3	+5,9	+3,3
180'	-	-	1%	1%	-	0,1%	-	-3,8	-2,5	-0,9	-3,5
210'	-	1%	-	-	-	-	5%	-	+1,3	+2,9	+0,3
240'	-	5%	-	-	-	1%	-	-	-	+1,6	-1,0
270'	-	-	-	1%	5%	0,1%	-	-	-	-	-2,6
300'	-	1%	-	-	-	5%	5%	-	-	-	-

Tabelle 63

Katecholamingehalt der Nebennieren und Matrix der Mittelwertsdifferenzen nach Chloräthylbenzmethoxazon i.p. bei intakten Ratten (nach v. Werther 9)

	Leer wert	15'	30'	60'	90'	120'	150'	180'
		nach 20 mg Nicopyron/100 g Tier i.p.						
N	5	5	5	5	5	5	5	5
Katecholamin- gehalt beider NN in μ /100 g Tier	22,96	17,06	18,16	17,34	17,50	17,40	19,52	19,36
Mittelwert aller behandelten Tiere: 18,05								

	L	15'	30'	60'	90'	120'	150'	180'
L		-1,24	-1,61	-2,90	-1,97	-2,60	-1,53	-1,03
15'	5%		-0,37	-1,66	-0,73	-1,36	-0,29	0,21
30'	1%	-		-1,29	-0,36	-0,99	0,08	0,58
60'	0,1%	1%	5%		0,93	0,30	1,37	1,87
90'	1%	-	-	-		-0,63	0,44	0,94
120'	0,1%	5%	-	-	-		1,07	1,57
150'	1%	-	-	5%	-	-		0,50
180'	-	-	-	1%	-	1%	-	

T a b e l l e 64

Katecholamingehalt der Nebennieren und Matrix der Mittelwerts-
differenzen nach i. p. Applikation von Nicopyron bei intakten
Ratten (nach K r e i s e l m e i e r ¹⁰⁾)

	Leer wert	30'	60' nach 5 mg Resochin	90'	120'	150' s.c.
N	10	7	7	7	7	7
Katecholamin- gehalt beider NN in μ /100 g Tier	22,82	24,48	26,15	18,83	18,32	22,27

	L	30'	60'	90'	120'	150'
L		1,60	3,33	-3,99	-4,50	-0,55
30'	-		1,67	-5,65	-6,16	-2,21
60'	5%	-		-7,32	-7,83	-3,88
90'	1%	0,1%	0,01%		-0,51	3,44
120'	1%	0,1%	0,1%	-		3,95
150'	-	-	5%	5%	5%	

T a b e l l e 65

Katecholamingehalt der Nebennieren und Matrix der Mittelwerts-
differenzen nach s.c. Applikation von Resochin bei intakten
Ratten (nach H a a s ¹¹⁾)

	18' n. Äthernarkose	33' Äthernarkose	63' Äthernarkose	18' n. Evipannarkose	33' Evipannarkose	63' Evipannarkose
N	5	5	5	5	5	5
Katecholamin- gehalt beider NN in μ /100 g Tier	31,78	23,76	24,34	28,32	27,64	21,70

	L	18'Ä	33'Ä	63'Ä	18'E	33'E	63'E
L		12,35	4,33	4,91	8,89	8,21	2,27
18'Ä	0,1%		-8,02	-7,44	-3,46	-4,14	-10,08
33'Ä	-	1%		0,58	4,56	3,88	-2,06
63'Ä	-	1%	-		3,98	3,30	-2,64
18'E	0,1%	-	-	-		-0,68	-6,62
33'E	1%	-	-	-	-		-5,94
63'E	-	0,1%	-	-	5%	5%	

T a b e l l e 66

Katecholamingehalt der Nebennieren und Matrix der Mittelwerts-
differenzen nach Äther- und Evipannarkose bei intakten Ratten
(nach J a r c h o w ¹²⁾)

Besprechung der Ergebnisse:

Im Falle der Acetylsalicylsäure und des Hydrocortisons wurde eine signifikante Abnahme des Katecholamingehaltes der Nebennieren festgestellt. Da unter diesen Substanzen eine Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark angenommen wurde, kann die Verminderung des Katecholamingehaltes als Ausdruck dieser Freisetzung gewertet werden.

Aus der Differenz des Minimums des Katecholamingehaltes gegenüber dem Leerwert können quantitative Angaben über die ausgeschüttete Katecholaminmenge nicht gemacht werden, da die Differenz theoretisch aus Ausschüttung und gleichzeitiger Neubildung resultiert. Es kann jedoch angenommen werden, daß mindestens im entsprechenden Zeitraum die Menge an Katecholaminen ausgeschüttet wird, die der Differenz entspricht.

Die maximale Differenz beträgt sowohl bei Acetylsalicylsäure als auch bei Hydrocortison mehr als 6 γ /100 g Tiergewicht. Da nach den Untersuchungen der Versuchsgruppe 6 bereits eine Dosis von 1 γ Adrenalin und Noradrenalin eine sichere Hemmung des Hyaluronidasespreadings ergibt, liegt die nach Acetylsalicylsäure und Hydrocortison ausgeschüttete Katecholaminmenge mit Sicherheit im Bereich der spreadinghemmenden Dosis.

Auch die nach Chloräthylbenzmethoxazon- und Moor- und Schwefelbäder-Applikation vorliegenden Verhältnisse zeigen eine deutliche Abnahme des Katecholamingehaltes der Nebennieren unter das Normalniveau, wobei im Falle der Bad Neydhartinger Moorsuspension und des Bad Reichenhaller Moores sowohl in der Anwendung als Moorbrei als auch als Suspension in höherer Verdünnung, ferner auch bei Schwefelbädern und Applikation von Chloräthylbenzmethoxazon anfängliche bzw. zwischenzeitliche Anstiege über das Normalniveau festgestellt werden konnten.

Anders gelagerte Verhältnisse wurden bei Phenylbutazon und Oestron-sulfat gefunden. Hier zeigte sich ein signifikanter Anstieg über die Normalwerte mit späterem Abfall auf das Normalniveau.

Dieses Verhalten wurde als mögliche Ausschüttung bei gleichzeitiger überschießender Neubildung gedeutet. Auch besteht die Möglichkeit einer Freisetzung der anfänglich vermehrt gebildeten Katecholamine, die sich im Abfall auf das Normalniveau äußern könnte. Da jedoch im zeitlichen Ablauf erkennbar wird, daß die Hemmung des Hyaluronidasespreadings bereits während des Anstieges des Katecholamingehaltes der Nebennieren eintritt, muß angenommen werden, daß die Katecholamine bereits während der überschießenden Neubildung ausgeschüttet werden. Nun haben aber die Untersuchungen in Narkose ohne Gabe einer Prüfsubstanz gezeigt, daß die notwendigen Versuchsbedingungen als solche einen Anstieg des Nebennierenkatecholamingehaltes bewirken, ohne daß eine Hemmung des Hyaluronidasespreadings erkennbar wird, die als Folge einer Katecholaminfreisetzung angesehen werden muß.

Der Kurvenverlauf des Katecholamingehaltes der Nebennieren unter Phenylbutazon und Gestronsulfat ist deshalb nicht beweiskräftig für eine Katecholaminfreisetzung bei gleichzeitig überschießender Neubildung, obwohl diese nach den vergangenen und folgenden Versuchen angenommen werden muß. Die Vermehrung des Katecholamingehaltes der Nebennieren ohne Freisetzung der Katecholamine unter den Versuchsbedingungen der Narkose kann vorläufig nicht erhärtet werden.

- 1) v. Kuepach, M.: Diss. München 1957
- 2) Biechele, I.: Diss. München 1959
- 3) Schub, T.: Diss. München 1959
- 4) Wiesmüller, J.: Diss. München 1958
- 5) Kaiser, I.: Diss. München 1958
- 6) Mathies, H. u. v. Werther, G.: Zschr. Bäder-Klimahk. 2, 582 (1958)
- 7) Vogel, H.: Diss. München 1961
- 8) Helmbold, M.: Diss. München 1964
- 9) v. Werther, G.: Diss. München 1958
- 10) Kreiselmeier, G.: Diss. München 1961
- 11) Haas, K.: Diss. München 1961
- 12) Jarchow, I.: Diss. München 1963

Katecholaminbestimmungen der Nebennieren nach Adrenalin-
applikation

Da auf Grund der Versuchsgruppe 11 angenommen werden muß, daß Adrenalin einen direkten Einfluß auf die Nebenniere ausübt, sollte der Katecholamingehalt der Nebennieren nach Adrenalininjektion untersucht werden, um sichere Aussagen über eine etwaige Stimulierung des Nebennierenmarkes durch Adrenalin machen zu können.

Für eine solche Stimulierung spricht sich neben F o r s t ¹ auch M a l o r n y ² aus, welcher bei Katzen nach Adrenalin-zufuhr zusätzliche rhythmische Blutdrucksteigerungen sah, die er auf stoßweise Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark zurückführte. Gegensätzlicher Meinung sind V o g t ³, G e r s h b e r g und Mitarbeiter ⁴, L o n g ⁵, L o n g und F r y ⁶, G o d o w s k i ⁷, R e c a n t und Mitarbeiter ⁸, F o r t i e r ⁹ und M c D e r m o t t und Mitarbeiter ¹⁰.

Die Katecholaminbestimmungen dieser Versuchsgruppe wurden zu verschiedenen Zeiten nach i.v. Injektion von 1 γ Adrenalin/100 g Tier in 0,5 ccm physiol. Kochsalzlösung an intakten und hypophys-ektomierten Ratten durchgeführt ¹¹. Siehe auch Tab. 67 und 68.

	Leer wert	5'	10'	20'	30'	40'	50'	60'	80'
		nach 1 γ Adrenalin /100 g Tier i.v.							
N	10	8	8	8	8	8	8	8	8
Katecholamin- gehalt beider NN in γ/100 g Tier	22,80	24,34	27,97	32,20	29,16	28,29	36,16	27,70	24,65

	L	5'	10'	20'	30'	40'	50'	60'	80'
L		1,54	5,17	9,40	6,36	5,49	13,36	4,90	1,85
5'	-		3,63	7,85	4,82	3,95	11,82	3,36	0,31
10'	0,1%	5%		4,23	1,19	0,32	8,19	-0,27	-3,32
20'	0,1%	0,1%	1%		-3,04	-3,91	3,96	-4,50	-7,55
30'	0,1%	0,1%	-	5%		-0,87	7,60	-1,46	-4,51
40'	0,1%	5%	-	5%	-		7,87	-0,59	-3,64
50'	0,1%	0,1%	0,1%	5%	0,1%	0,1%		-8,46	-11,51
60'	1%	5%	-	1%	-	-	0,1%		-3,05
80'	-	-	5%	0,1%	1%	1%	1%	5%	

T a b e l l e 67

Katecholamingehalt der Nebennieren und Matrix der Mittelwertsdifferenzen nach i.v. Applikation von Adrenalin bei intakten Ratten

(nach K a i n z ¹¹⁾)

	Leer wert	20' n. 1 γ Adrenalin	50'
N	6	5	5
Katecholamin- gehalt beider NN in γ /100 g Tier	23,12	18,63	12,02

	L	20'	50'
L		-4,49	-11,10
20'	5%		-6,61
50'	5%	5%	

T a b e l l e 68

Katecholamingehalt der Nebennieren und Matrix der Mittelwerts-
differenzen nach i.v. Applikation von Adrenalin bei hypophys-
ektomierten Ratten (nach K a i n z ¹¹)

Besprechung der Ergebnisse:

Nach den vorliegenden Versuchsergebnissen bewirkt eine i.v. Injektion von Adrenalin einen erheblichen Anstieg des Katecholamingehaltes der Nebennieren bei intakten Tieren.

Bei hypophysektomierten Tieren konnte dagegen keine Zunahme, sondern im Gegenteil ein Abfall der Nebennierenkatecholamine verzeichnet werden (50 min p.i. betrug der Katecholamingehalt lediglich noch 11,1 γ /100 g Tier).

Da in Vorversuchen gezeigt werden konnte, daß die Erhöhung der Katecholamine im Nebennierenmark unter den getesteten Medikamenten vorwiegend auf einer Neubildung beruht, ist anzunehmen, daß eben diese Neubildung bei hypophysektomierten Ratten ausfällt.

Abschließend läßt sich also sagen, daß die i.v. Zufuhr von Adrenalin sowohl bei intakten als auch bei hypophysektomierten Tieren eine zusätzliche Katecholaminausschüttung aus der Nebenniere bedingt, wobei die Hypophyse lediglich für eine erhebliche Neubildung von Katecholaminen im Nebennierenmark verantwortlich zu machen ist.

- 1) Forst, A. W.: Persönliche Mitteilung
- 2) Malorny, G.: Dtsch. med. Journ. 4, 1 (1953)
- 3) Vogt, M.: Journ. Physiol. 103, 317 (1944)
Journ. Physiol. 113, 129 (1951)
- 4) Gershberg, H., Fry, E. G., Brobeck, J. R. u. Long, C. N. H.:
Yale J. Biol. Med. 23, 32 (1950)
- 5) Long, C. N. H.: Bull. New York Acad. med. 23, 260 (1947)
- 6) Long, C. N. H., Fry, E. G.: Proc. Soc. exp. Biol. a Med. 59, 67 (1945)
- 7) Godowski, Z.: Brit. med. J. 46 (1948)
- 8) Recant, L., Forsham, P. H., Thorn, G. W. u. Hills, A. G.:
J. clin. Endocrinol. 8, 589 (1948)
- 9) Fortier, C.: J. clin. Endocrin. 11, 751 (1951)
- 10) McDermott, W. V., Fry, E. G., Brobeck, J. R. u. Long, C. N. H.:
Yale J. Biol. Med. 23, 52 (1950)
- 11) Kainz, A.: Diss. München 1961

Blockierung der Hyaluronidasehemmung durch Adrenolytica

Aus den bisher durchgeführten Versuchen läßt sich schließen, daß die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität durch die bisher geprüften antirheumatischen Substanzen letztlich auf einer Katecholaminwirkung beruht. Bei Applikation adrenolytisch wirksamer Stoffe müßte es demnach möglich sein, den hemmenden Einfluß, den die geprüften Substanzen auf die Hyaluronidaseaktivität ausüben, wieder aufzuheben.

Für diese Versuche wurde als Sympthicolyticum Ergotamin herangezogen und geprüft, ob der die Wirkungen des Adrenalin und Noradrenalin blockierende bzw. umkehrende Effekt auch für die Hemmung des Hyaluronidasespreadings zutrifft und auch die über die Katecholamine wirkende Hemmung der Hyaluronidaseaktivität durch die bereits geprüften antirheumatischen Substanzen mit einschließt.

Versuchsreihe 1

In dieser Versuchsreihe wurde geprüft, wie sich die durch Adrenalin (1 γ /100 g Tier) und Noradrenalin (1 γ /100 g Tier) bedingte Hemmung der Hyaluronidaseaktivität unter Ergotamintartrat (0,8 mg/100 g Tier) als Sympthicolyticum verhält ^{1, 2}. Einzelheiten dieser Versuchsreihe sind aus Tabelle 69 und Abbildung 23 ersichtlich.

Versuchsreihe 2

Als hyaluronidasehemmende Substanz diente Na-Salicylat, das 30' nach Ergotamintartrat s.c. appliziert wurde. 50' nach einfacher Applikation von Na-Salicylat lag normalerweise die größte Hemmung der Hyaluronidase ¹. Siehe auch Tabelle 70.

Versuchsreihe 3

In dieser Versuchsreihe soll die blockierende Wirkung des Ergotamintartrats auf die durch Chloroquin ausgelöste Hyaluronidasehemmung dargestellt werden ³ (Tabelle 70 und Abbildung 24).

Versuchsreihe 4

Zur Klärung des Wirkungsmechanismus der Hyaluronidasehemmung durch Bienengift wurde in dieser Versuchsreihe geprüft, ob Ergotamintartrat auch die durch Forapin erzielte Hemmung der Hyaluronidase

zu blockieren vermag⁴ (Tabelle 70 und Abbildung 24).

Versuchsreihe 5

In dieser Versuchsreihe sollte die hyaluronidasehemmende Wirkung des Prednisolons durch Ergotamintartrat blockiert werden⁵.

Einzelheiten der Versuchsanordnung und Versuchsergebnisse sind in Tabelle 71 dargestellt.

Versuchsreihe 6

Es wurde geprüft, ob auch die durch Oestronsulfat bedingte Hemmung der Hyaluronidaseaktivität durch Ergotamintartrat blockiert werden kann⁶. Einzelheiten und Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind aus Tabelle 71 und Abbildung 24 ersichtlich.

Versuchsreihe 7

Hier sollte untersucht werden, ob eine vor Applikation des Bad Neydhartinger Moorschwebstoffes erfolgte Injektion von Ergotamin-tartrat ebenfalls die hyaluronidasehemmende Wirkung dieses Moor-vorkommens aufhebt⁷. Siehe auch Tabelle 71 und Abbildung 24.

Versuchsreihe 8

In den Versuchsreihen 1-7 konnte gezeigt werden, daß Ergotamintartrat die hyaluronidasehemmende Wirkung der geprüften antirheumatischen Substanzen aufzuheben vermag. Es ist nun interessant zu untersuchen, wie sich Ergotamin allein auf das Hyaluronidasespreading auswirkt. Sollte sich eine Steigerung der Hyaluronidaseaktivität zeigen, könnte man die Aufhebung des Effektes hyaluronidasehemmender Substanzen nicht mehr als echte Blockade bezeichnen⁸. Siehe Tabelle 72 und Abbildung 25.

Versuchsreihe 9

Wie in Versuchsreihe 8 dargestellt wurde, vermag Ergotamintartrat allein die Hyaluronidaseaktivität zu hemmen; in Verbindung mit anderen, antirheumatisch wirksamen Substanzen bewirkt es jedoch eine Aufhebung der Hyaluronidasehemmung. Daraus ergibt sich die Frage, welchen Einfluß eine zweite Injektion von Ergotamintartrat auf eine vorangehende Injektion hinsichtlich der Beeinflussung des Hyaluronidasespreadings ausübt⁹. Siehe Tabelle 73 und Abbildung 25.

Versuchsreihe 10

Bekanntlich ist es nicht möglich, durch Adrenalindauerinfusion bei adrenaletomierten Tieren eine Hyaluronidasehemmung zu erreichen, da hierbei ein gleichmäßig erhöhter Katecholaminblutspiegel vorliegt. Wenn nun Ergotamintartrat den Katecholaminblutspiegel im Sinne eines Absinkensbeeinflusst und damit ebenfalls hyaluronidasehemmend wirkt, müßte auch ein durch Adrenalindauerinfusion bei adrenaletomierten Ratten erhöhter Katecholaminblutspiegel lytisch beeinflußt werden. Diese Versuche sind in Tabelle 74 und in Abbildung 25 dargelegt ^{2, 10}.

Versuchsreihe 11

Es sollte in dieser Versuchsreihe geprüft werden, ob die blockierende Wirkung des Ergotamintartrat auf hyaluronidasehemmende Substanzen auch für die Verhältnisse am Menschen zutrifft ¹¹. Einzelheiten des Versuchs sind aus Tabelle 76 und Abbildung 26 ersichtlich.

Versuchsreihe 12

In dieser Versuchsreihe war zu untersuchen, wie weit Adrenolytica und Ganglienblocker sich gegenseitig in ihrer Wirkung auf das Hyaluronidasespreading beeinflussen. Einzelheiten der Versuchsanordnung und Versuchsergebnisse gehen aus Tabelle 78 hervor ².

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Adrenalin 1γ/100 g 30' nach Ergotamin 0,8mg/100g	i.v. s.c.	15'	4	109	117	+ 8	-	229	231	+ 2	-
Noradren. 1γ/100 g 30' nach Ergotamin 0,8mg/100g	i.v. s.c.	15'	4	117	119	+ 2	-	231	225	- 6	-
Adrenalin 1γ/100g gleichzeit. Ergotamin 0,8mg/100g	s.c. s.c.	5' 15' 45' 90'	5 5 5 5	133 122 133 122	134 118 134 117	+ 1 - 4 + 1 - 5	- - - -	220 224 220 224	157 191 166 214	-63 -33 -54 -10	0,1% 0,1% 0,1% 5%
Adrenalin 1γ/100 g 10' nach Ergotamin 0,8mg/100g	s.c. s.c.	5' 15' 45' 90'	5 5 5 5	116 118 116 118	121 115 120 115	+ 5 - 3 + 4 - 3	- - - -	221 218 221 218	178 187 208 205	-43 -31 -13 -13	0,1% 0,1% 5% 5%
Adrenalin 1γ/100 g 20' nach Ergotamin 0,8mg/100g	s.c. s.c.	5' 15' 45' 90'	5 5 5 5	121 125 121 125	119 121 118 124	- 2 - 4 - 3 - 1	- - - -	200 215 200 215	194 206 197 206	- 6 - 9 - 3 - 9	- 5% - 5%
Adrenalin 1γ/100 g 30' nach Ergotamin 0,8mg/100g	s.c. s.c.	5' 15' 45' 90'	5 5 5 5	120 127 120 127	117 125 121 129	- 3 - 2 + 1 + 2	- - - -	224 215 224 215	206 201 203 213	-18 -14 -21 - 2	0,1% 1% 0,1% -
Adrenalin 1γ/100 g 40' nach Ergotamin 0,8mg/100g	s.c. s.c.	5' 15' 45' 90'	5 5 5 5	119 129 119 129	122 126 118 124	+ 3 - 3 - 1 - 5	- - - -	223 220 223 220	203 218 210 214	-20 - 2 -13 - 6	0,1% - 1% -

T a b e l l e 69

Einfluß von Ergotamintartrat als Adrenolyticum bei s.c. Applikation auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading unter Adrenalin und Noradrenalin bei intakten Ratten (nach Schmidt² und Gönnenwein²)

Versuchs- Substanz Dosis	Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Na-Salic. 50mg/100g 30'nach Ergotamin 0,8mg/100g	s.c.	50'	3	150	161	+11	-	237	242	+ 5	-
Chloroquin 10mg/100g 30'nach Ergotamin 0,8mg/100g	s.c.	30'	4	107	105	- 2	-	202	199	- 3	-
	s.c.	50'	4	107	98	- 9	1%	202	153	-49	1%
Chloroquin 10mg/100g 20' vor und 30'nach Ergotamin 0,8mg/100g	s.c.	30'	4	107	103	- 4	-	203	193	-10	-
	s.c.	50'	4	107	101	- 6	-	203	192	-11	-
Forapin 0,2ml/100g 30' nach Ergotamin 0,8mg/100g	i.c.	20'	5	113	118	+ 5	-	187	178	- 9	1%
	s.c.	40'	5	113	115	+ 2	-	187	163	-24	0,1%
Forapin 0,2ml/100g 30'nach u. gleichzeit. Ergotamin 0,8mg/100g	i.c.	20'	5	122	119	- 3	-	196	189	- 7	1%
	s.c.	40'	5	122	116	- 6	-	196	185	-11	1%

T a b e l l e 70

Einfluß von Ergotamintartrat s.c. auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidasespreading unter Na-Salicylat s.c., Chloroquin s.c. und Forapin i.c. bei intakten Ratten (nach Schmidt¹, Will³ und Krott⁴)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor 2 mm	nach 2 mm	Diff. 2 mm	p	vor 2 mm	nach 2 mm	Diff. 2 mm	p
Predniso- lon 2,5mg /100 g 30' nach Ergotamin 0,8mg/100g	i.v.	80'	4	159	156	- 3	-	266	267	+ 1	-
	s.c.	120'	4	159	158	- 1	-	266	270	+ 4	-
Gestron- sulfat 50y/100g 30' nach Ergotamin 0,8mg/100g	s.c.	20'	5	185	186	+ 1	-	277	270	- 7	5%
	s.c.	50'	5	185	185	± 0	-	277	275	- 2	5%
Neyd.Moor. 30', 35°C 30' nach Ergotamin 0,8mg/100g	Bade- appl.	30'	5	127	122	- 5	-	221	224	+ 3	-
	s.c.	40'	5	127	121	- 6	-	221	222	+ 1	-

T a b e l l e 71

Einfluß von Ergotamintartrat s.c. auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading unter Prednisolon i.v., Gestronsulfat s.c. und Neydhartinger Moorbäder bei intakten Ratten (nach P o u l a n t z a s ⁵, G l ü c k ⁶ und L i n g n a u ⁷)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Ergotamin- tartrat	s.c.	15'	4	143	140	- 3	-	255	220	-35	1%
		30'	4	145	144	- 1	-	253	235	-18	-
0,8mg/100g		45'	5	146	150	+ 4	-	254	235	-19	1%
intakte		60'	4	143	143	± 0	-	255	242	-13	-
Ratten		75'	4	145	146	+ 1	-	253	242	-11	-
		90'	5	146	145	- 1	-	254	246	- 8	-
Ergotamin- tartrat	s.c.	15'	6	136	133	- 3	-	209	175	-34	0,1%
		30'	6	127	127	± 0	-	216	179	-37	0,1%
0,8mg/100g adrenal.		45'	6	136	134	- 2	-	209	177	-32	0,1%
Ratten		60'	6	127	130	+ 3	-	216	175	-41	0,1%

T a b e l l e 72

Einfluß von Ergotamintartrat s.c. auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei intakten und adrenaletomierten Ratten (nach L o e n i c k e r ⁸)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Ergotamin- tartrat	s.c.	15'	6	126	120	- 6	-	236	184	-52	0,1%
0,8mg/100g n. 20' er- neute Inj.		35'	6	126	124	- 2	-	236	224	-12	
Ergotamin- tartrat	s.c.	15'	6	127	121	- 6	-	242	179	-63	0,1%
0,8mg/100g n. 45' er- neute Inj.		60'	6	127	119	- 8	-	242	183	-59	0,1%

T a b e l l e 73

Einfluß einer zweimaligen Injektion von Ergotamintartrat bei s.c. Applikation auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten (nach T r a u t ⁹)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Ergotamin- tartrat	s.c.	15'	6	134	124	-10	1%	234	174	-60	0,1%
0,8mg/100g											
20' vor und alle 20'		45'	6	134	111	-23	0,1%	234	163	-71	0,1%
während der Adrenalin- dauerinfus.		80'	6	137	130	- 7	-	233	157	-76	0,1%
1γ/100g/Min	i.v.	120'	6	137	117	-20	1%	233	119	-114	0,1%

T a b e l l e 74

Einfluß von Ergotamintartrat bei s. c. Applikation auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei adrenaletomierten Ratten in Verbindung mit Adrenalin-dauerinfusion i.v. (nach R i t z ¹⁰)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Adrenalin 1γ/100g	s.c.	5'	6	136	138	+ 2	-	212	196	-16	5%
20' nach Ergotamin- tartrat	s.c.	45'	6	136	135	- 1	-	212	187	-25	0,1%
0,8mg/100g											
Adrenalin 1γ/100g	s.c.	5'	6	139	139	± 0	-	244	197	-47	0,1%
30' nach Ergotamin- tartrat	s.c.	45'	6	139	137	- 2	-	244	206	-38	0,1%
0,8mg/100g											

T a b e l l e 75

Einfluß von Ergotamintartrat bei s.c. Applikation auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading unter Adrenalin s.c. bei adrenaletomierten Ratten (nach G ö n n e n w e i n ²)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Phenyl- butazon 0,02ml/kg 30' nach 0,5 mg Ergotamin Meßstelle: Bauch	i.m.	0'	4	93	94	+ 1	—	198	194	- 4	—
		20'	4		90	- 3	—		195	- 3	—
		40'	4		89	- 4	—		195	- 3	—
	s.c.	60'	4						193	- 5	—
		70'	4						194	- 4	—
		80'	4		96	+ 3	—		195	- 3	—
Phenyl- butazon 0,02ml/kg 30' nach 0,5 mg Ergotamin Meßstelle: Bein	i.m.	0'	4	98	92	- 6	—	218	207	-11	—
		20'	4		98	+ 0	—		194	-24	—
		40'	4		97	- 1	—		204	-14	—
	s.c.	60'	4		96	- 2	—		192	-26	—
		70'	4						210	- 8	—
		80'	4		95	- 3	—		206	-12	—
Phenylbu- tazon 0,02ml/kg 30' nach 0,6 mg Ergotamin Meßstelle: Bauch	i.m.	0'	6	81	80	- 1	—	179	176	- 3	—
		20'	6		79	- 2	—		179	+ 0	—
		40'	6		81	+ 0	—		170	- 9	—
	s.c.	60'	6		80	- 1	—		168	-11	—
		70'	6		80	- 1	—		172	- 7	—
		80'	6		78	- 3	—		177	- 2	—
		90'	6						174	- 5	—
		100'	6		79	- 2	—		176	- 3	—
Phenyl- butazon 0,02ml/kg 30' nach 0,6 mg Ergotamin Meßstelle: Bein	i.m.	0'	6	93	94	+ 1	—	205	193	-12	—
		20'	6		90	- 3	—		194	-11	—
		40'	6		96	+ 3	—		199	- 6	—
	s.c.	60'	6		92	- 1	—		197	- 8	—
		70'	6						200	- 5	—
		80'	6		93	+ 0	—		186	-19	—
		90'	6						193	-12	—
		100'	6		90	- 3	—		199	- 6	—

T a b e l l e 76

Einfluß von Ergotamintartrat bei s.c. Applikation auf das Farbstoff-
und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading unter Phenylbutazon i.m. am
Menschen (nach V o g e l ¹¹)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Adrenalin	s.c.	0'	5	84	86	+ 2	-	171	171	± 0	-
4γ/kg		20'	5		84	± 0	-		170	- 1	-
30' nach											
Ergotamin	s.c.	40'	5		82	- 2	-		171	± 0	-
0,5 mg		60'	5		88	+ 4	-		177	+ 6	-
Meßstelle:											
Bauch		70'	5		84	± 0	-		177	+ 6	-
		80'	5		86	+ 2	-		169	- 2	-
		90'	5		83	- 1	-		169	- 2	-
Adrenalin	s.c.	0'	4	98	98	± 0	-	232	228	- 4	-
4γ/kg		20'	4		97	- 1	-		228	- 4	-
30' nach		40'	4		95	- 3	-		227	- 5	-
Ergotamin	s.c.	60'	4		96	- 2	-		232	± 0	-
0,5 mg		70'	4		95	- 3	-		240	+ 8	-
Meßstelle:		80'	4		98	± 0	-		238	+ 6	-
Bein		90'	4		98	± 0	-		236	+ 4	-
		100'	4		97	- 1	-		233	+ 1	-

T a b e l l e 77

Einfluß von Ergotamintartrat bei s.c. Applikation auf das Farbstoff-
und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading unter Adrenalin s.c. beim
Menschen (nach V o g e l ¹¹⁾)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Ergotamin 0,8 mg/ 100g, 20'	s.c.	5'	6	118	117	- 1	-	212	189	-23	0,1%
vor 5 mg Pendiomid /Tier	i.v.	45'	6	118	119	+ 1	-	212	194	-18	0,1%
Pendiomid 5mg/Tier 20' nach	i.v.	15'	6	126	125	- 1	-	215	211	- 4	-
Ergotamin 0,8mg/100g	s.c.	90'	6	126	125	- 1	-	215	210	- 5	-
Ergotamin 0,8mg/100g	s.c.	15'	6	121	116	- 5	-	207	178	-29	0,1%
30' nach		30'	6	117	115	- 2	-	222	189	-33	0,1%
Pendiomid 5mg/Tier	i.v.	45'	6	121	113	- 8	-	207	184	-23	0,1%
		60'	6	117	115	- 2	-	222	193	-29	0,1%

T a b e l l e 78

Einfluß von Ergotamintartrat bei s.c. Applikation und Pendiomid bei i.v. Applikation auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten (nach G ö n n e n w e i n ²)

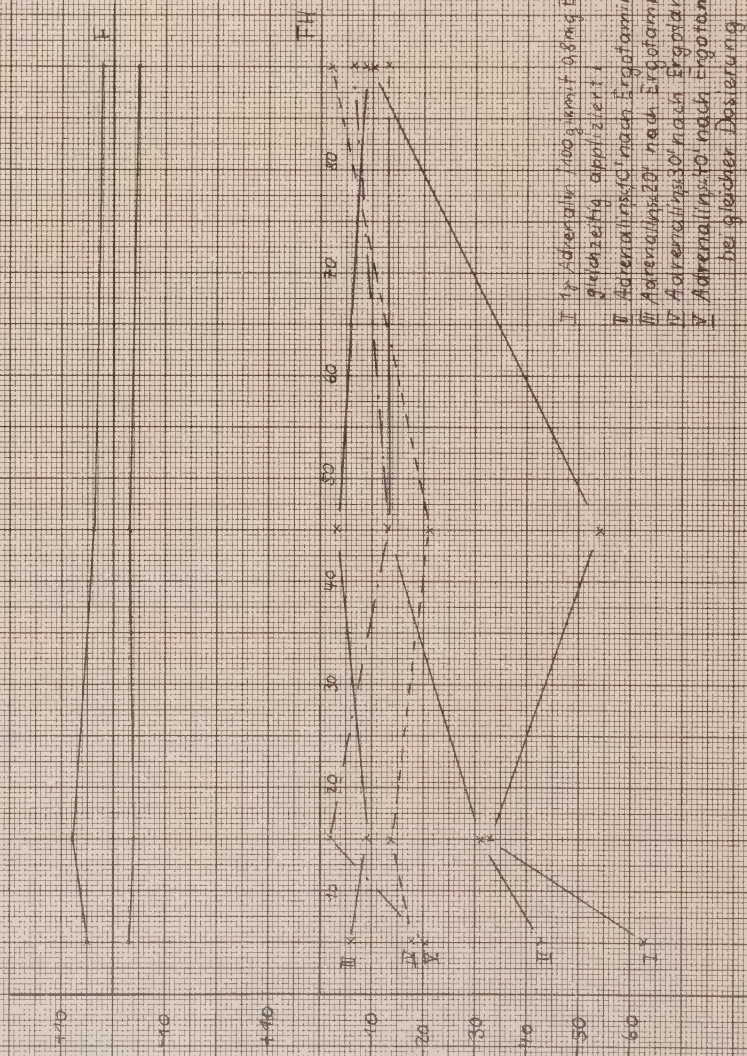
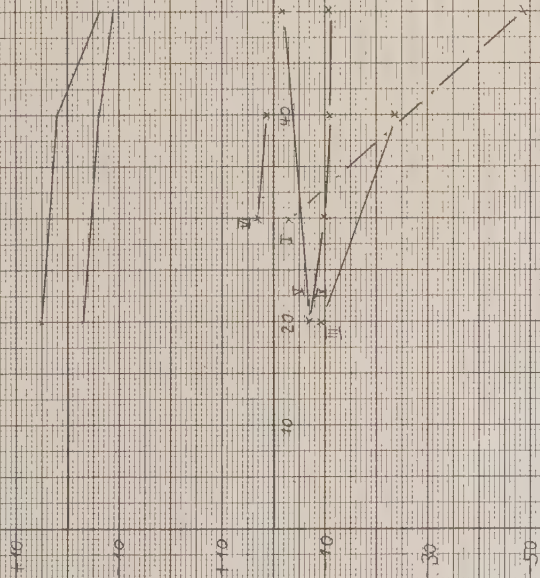


Abb. 23



I

II

- I 10mg Chloroquin 100% s.c. 30 Min nach s.c. Applikation von 0,8mg Ergotamin tartrat / 100g bei intakten Ratten
- II 0,2ccm Testosteron / 100g i.c. 30 Min nach s.c. Applikation von 0,8mg Ergotamin tartrat / 100g bei intakten Ratten
- III 0,2ccm Testosteron / 100g i.c. 30 Min nach und gleichzeitig mit 0,8mg Ergotamin tartrat / 100g s.c. bei intakten R
- IV 50% Desbrinsulfat / 100g s.c. 30 Min nach s.c. Applikation von 0,8mg Ergotamin tartrat / 100g bei intakten Ratten
- V Neugeburtiger Moerschschafstafelbad (30 Min bei 35°C) 30 Min nach s.c. Applikation von 0,8mg Ergotamin tartrat / 100g bei intakten Ratten

Abb 24

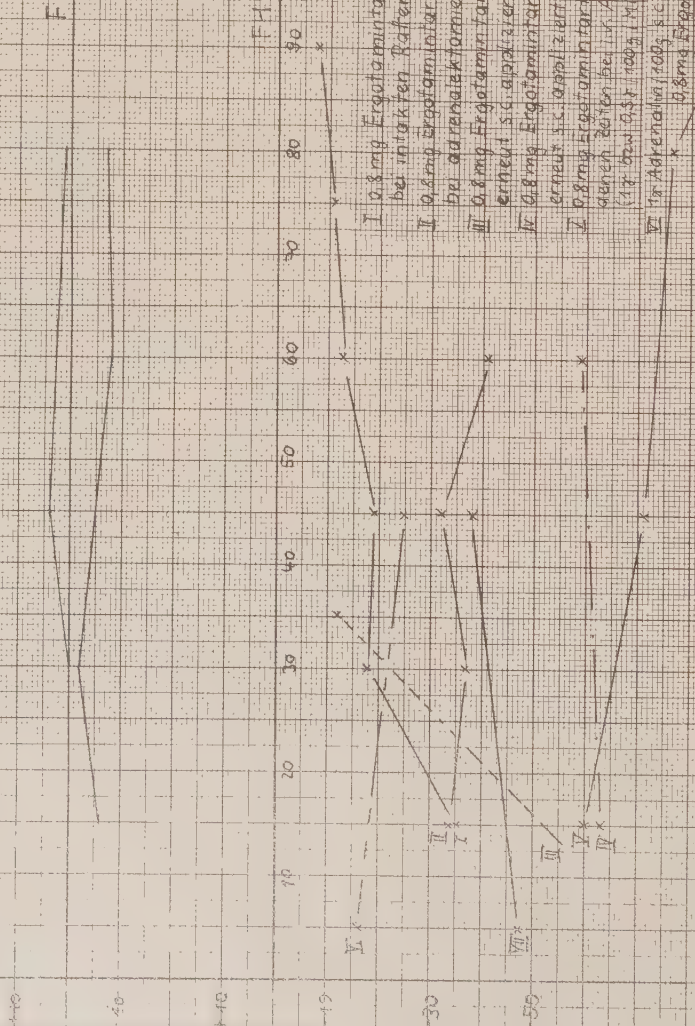
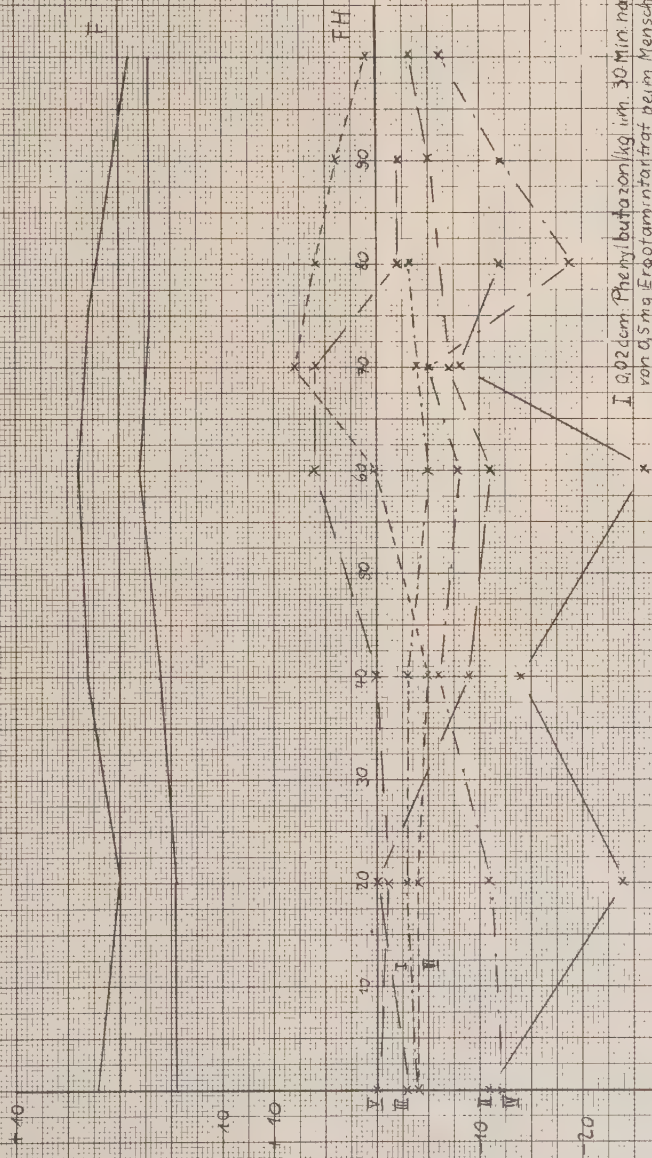


Abb 25



- I 0.02 cm Phenylbutazon/kg im 30 Min nach s.c. Applikation von 0.5 mg Ergotamintratrat beim Menschen (Bauch)
- II Medikation und Dosierung wie I, Meßstelle Bein
- III 0.02 cm Phenylbutazon im 30 Min. nach s.c. Applikation von 0.5 mg Ergotamintratrat beim Menschen (Bauch)
- IV Medikation und Dosierung wie III, Meßstelle Bein
- V 0.5 mg Adrenalin/kg s.c. 30 Min nach s.c. Applikation von 0.5 mg Ergotamintratrat beim Menschen (Bauch)
- VI Medikation und Dosierung wie V, Meßstelle Bein

Abb. 26

Besprechung der Ergebnisse:

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe zeigen, daß die hyaluronidasehemmende Wirkung sowohl des Adrenalins und Noradrenalins als auch verschiedener anderer, antirheumatisch wirksamer Substanzen durch Ergotamintartrat, das ein Adrenolyticum darstellt, aufgehoben wird. Daraus kann gefolgert werden, daß eine Blockierung hyaluronidasehemmender Substanzen durch Ergotamintartrat über eine Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark vonstatten gehen muß.

Bei Applikation von Ergotamin allein konnte eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität verzeichnet werden. Da ein Injektionsstress auf Grund von Versuchen mit einer einfachen NaCl-Injektion ausgeschlossen werden konnte, mußte eine andere Erklärung für dieses Verhalten unter Ergotamin gefunden werden.

Nach Donzelot und Kaufmann¹² und Labonit und Huguenard¹³ wirkt Ergotamintartrat mit Heparin synergistisch im Sinne einer Katecholaminfreisetzung aus dem Nebennierenmark. Ob die hyaluronidasehemmende Wirkung des Ergotamins allein ebenfalls auf einer Katecholaminausschüttung beruht, ist fraglich, da Ergotamin andererseits blockierend auf die Hyaluronidasehemmung durch Adrenalin und Noradrenalin wirkt.

Smith¹⁴ erklärt die hyaluronidasehemmende Wirkung des Ergotamins durch eine histaminmobilisierende Wirkung der Adrenolytica. Es kann aus diesen Überlegungen jedoch gefolgert werden, daß die Aufhebung der durch bestimmte Antirheumatika bewirkten Hyaluronidasehemmung ein echter blockierender Effekt ist, da sonst anzunehmen wäre, daß die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität durch Ergotamin eher noch verstärkt würde.

Die Verhältnisse nach einer zweimaligen Injektion von Ergotamintartrat sehen folgendermaßen aus, daß, wenn die zweite Injektion nach 20 Minuten auf die erste folgt, der hyaluronidasehemmende Effekt der ersten Injektion aufgehoben wird. Folgt die zweite Injektion aber erst 45 Minuten auf die erste, so ist die blockierende Wirkung der ersten Injektion bereits erloschen und die zweite Injektion kann erneut seine hyaluronidasehemmende Wirkung entfalten. Damit ist

sicher, daß diese Substanz imstande ist, auch die eigene Hyaluronidasehemmung zu blockieren.

Außerdem ist es möglich, jetzt etwas über die Dauer des blockierenden Effektes auszusagen: bis ca. 35 Minuten p. i. kann mit einer blockierenden Wirkung gerechnet werden, während diese nach 60 Minuten p.i. bereits wieder aufgehoben ist. Das Verhalten von Ergotamin-tartrat am Menschen ist das gleiche wie in den vorangehend beschriebenen Versuchsreihen an Ratten. Eine weitere Aufklärung der Wirkungsweise des Ergotamintartrats gibt die Adrenalindauerinfusion unter Ergotamintartrat an adrenaletomierten Ratten. Wie früher gezeigt werden konnte, hatte eine Adrenalindauerinfusion ohne Ergotamin an adrenaletomierten Ratten keinen hyaluronidasehemmenden Effekt. Dieser läßt sich jedoch deutlich feststellen, wenn die Adrenalindauerinfusion an adrenaletomierten Tieren unter Ergotamin durchgeführt wird. Die Rolle des Ergotamin kann auch hier verschieden interpretiert werden. Die Erklärung im Sinne eines adrenolytischen Effektes auf die bei Beginn der Infusion erfolgende Katecholaminblutspiegelerhöhung dürfte unzureichend sein, da derselbe Effekt dann auch bei einmaliger Adrenalingabe eintreten müßte, dies jedoch nicht der Fall ist, sondern im Gegenteil das einzeitig applizierte Adrenalin in seiner hyaluronidasehemmenden Wirkung blockiert wird.

Es ist vielmehr ein lytischer Einfluß auf einen konstanten Katecholaminblutspiegel anzunehmen, wie auch der hyaluronidasehemmende Effekt des Ergotamin allein bei intakten Ratten andeutet. Da andererseits Ergotamintartrat die hyaluronidasehemmende Wirkung einmaliger oder auch wiederholter Adrenalingaben nicht auftreten läßt, ist auch eine lytische Wirkung auf Katecholamingaben anzunehmen, die den Blutspiegel kurzfristig über das Normalniveau anheben.

Ergotamintartrat kann also möglicherweise einen bestehenden gleichmäßigen sowohl normalen als auch experimentell erhöhten Katecholaminblutspiegel im Sinne eines Absinkens beeinflussen und damit eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität hervorrufen.

- 1) Schmitt, D.: Diss. München 1959
- 2) Gönnerwein, R.: Diss. München 1964
- 3) Will, E.: Diss. München 1960
- 4) Krott, H.: Diss. München 1960
- 5) Poulantzas, J.: Diss. München 1958
- 6) Glück, A.: Diss. München 1959
- 7) Lingnau, W.: Diss. München 1960
- 8) Loenicker, E.: Diss. München 1962
- 9) Traut, O.: Diss. München 1962
- 10) Ritz, O.: Diss. München 1962
- 11) Vogel, M.: Diss. München 1960
- 12) Donzelot, E. u. Kaufmann, H.: La Presse méd. 76, 60, 1619 (1952)
- 13) Labonit, H. u. Huguenard, P.: Pratique de C'hibernotherapie en chirurgie et en médecine Masson e Cie, Paris 1954
- 14) Smith, M. J.: J. Pharmacol. 34, 239 (1928)

Blockierung des Nebennierenmarkes durch Pendiomid als Ganglienblocker

Da auf Grund der vorliegenden Versuchsergebnisse das hyaluronidase-hemmende Prinzip auf eine Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark zurückgeführt werden kann, das Nebennierenmark aber nach B a c h m a n n ¹ und E i c h h o l t z ² als ein in der Entwicklung des Sympathicus abgesprengtes differenziertes sympathisches Ganglion anzusehen ist, müßte nach Applikation von ganglienblockierenden Substanzen die Hemmung des Hyaluronidasespreadings ebenfalls aufgehoben sein.

Entsprechende Untersuchungen und deren Ergebnisse sind in der folgenden Versuchsgruppe dargestellt. Die Bestimmungszeiten entsprechen den Zeitpunkten, an denen ohne Applikation von ganglienblockierenden Substanzen ein Maximum an Hemmung auftrat.

Versuchsreihe 1:

Es wurde den Tieren Pendiomid in die freipräparierte Femoralvene und daran anschließend sofort Na-Salicylat unter das Rückenfell injiziert ³. Dosis der Substanzen und Einzelheiten der Versuchsanordnung sowie Versuchsergebnisse sind aus Tabelle 79 und Abbildung 27 ersichtlich.

Versuchsreihe 2:

In dieser Versuchsreihe wurde den Tieren das Pendiomid 30 Minuten vor bzw. 30 Minuten vor und 10 Minuten nach Gabe des Resochins appliziert ⁴. Einzelheiten der Versuchsanordnung und die Abmessungen der Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln sind aus Tabelle 79 und Abbildung 27 zu entnehmen.

Versuchsreihe 3:

Den Tieren wurden 30 Minuten nach Applikation von Pendiomid Adrenalin bzw. Noradrenalin in einer Lösung von 1:1000 und in physiologischer Kochsalzlösung 1:10 verdünnt appliziert und zu den aus Tabelle 79 ersichtlichen Zeiten die Ausbreitung der Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel gemessen ⁵. Siehe auch Abb. 27.

Versuchsreihe 4:

In dieser Versuchsreihe wurde der Einfluß von Pendiomid auf die

durch Phenylbutazon bewirkte Hyaluronidasehemmung zu den in Tabelle 79 aufgeführten Zeitpunkten bestimmt ⁵. Siehe auch Abb. 27.

Versuchsreihe 5:

Den Tieren wurde Prednisolon injiziert, nachdem ihnen 30 Minuten vor Gabe des Medikamentes Pendiomid appliziert worden war ⁵. Einzelheiten dieser Versuchsreihe sind in Tabelle 80 und Abbildung 27 aufgeführt.

Versuchsreihe 6:

Es wurde den Tieren Oestransulfat verabreicht, nachdem ihnen 30 Minuten vorher Pendiomid injiziert worden war ⁵. Siehe auch Tabelle 80 und Abbildung 27.

Versuchsreihe 7:

30 Minuten nach Pendiomid-Applikation wurden die Tiere in einer Suspension des Bad Reichenhaller Moores in einer Verdünnung von 1:500 bei 37°C 30 Minuten gebadet ⁵. Die Ausbreitung der Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel wurde zu den in Tabelle 80 aufgeführten Zeitpunkten gemessen.

Versuchsreihe 8:

In dieser Versuchsreihe wurde das Verhalten von Bienengift nach Pendiomid-Applikation geprüft ⁶. Siehe auch Tabelle 80.

Versuchsreihe 9:

Es war interessant zu prüfen, welchen Einfluß Pendiomid allein auf das Hyaluronidase-Spreading zeigt ³. Ergebnisse siehe Tabelle 80 und Abbildung 27.

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Na-Sali- cylat 50mg/100g	s.c.	30'	6	127	131	- 6	-	238	228	-10	-
Pendiomid 5mg/100g	i.v.	60'	6	137	133	- 4	-	238	219	-19	5%
Resochin 10mg/100g	s.c.	30'	5	107	104	- 3	-	201	168	-33	1%
30' nach		50'	5	107	101	- 6	5%	201	150	-51	1%
Pendiomid 5mg/100g	i.v.	30'	5	112	103	- 9	5%	202	197	- 5	-
		50'	5	112	108	- 4	-	202	190	-12	1%
Adrenalin 1γ/100g	i.v.	15'	5	120	115	- 5	-	203	166	-37	1%
30' nach		30'	5	120	112	- 7	-	203	181	-22	1%
Pendiomid 0,5mg/100g	i.v.	30'	5	114	111	- 3	-	217	165	-52	1%
Noradrenalin 1γ/100 g	i.v.	15'	5	114	111	- 3	-	217	165	-52	1%
30' nach		30'	5	114	113	- 1	-	217	193	-24	1%
Pendiomid 0,5mg/100g	i.v.										
Butazolidin 20mg/100 g	s.c.	60'	4	126	133	+ 7	-	208	211	+ 3	
30' nach		90'	4	126	134	+ 8	-	208	212	+ 4	
Pendiomid 0,5 mg/100 g	i.v.										

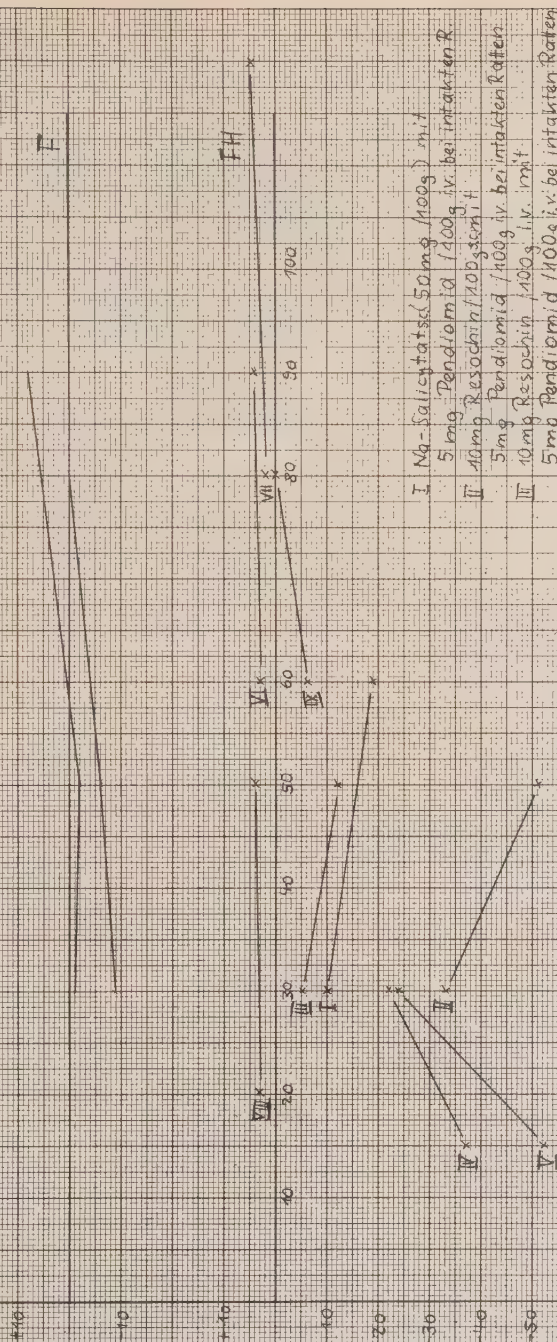
T a b e l l e 79

Einfluß von Pendiomid bei i.v. Applikation auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading unter Resochin s.c., Adrenalin i.v., Noradrenalin i.v. und Butazolidin s.c. (nach Will⁴ und Oestreich⁵)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Prednisolon 2,5mg/100g 30' nach	s.c.	80'	5	125	127	+ 2	-	215	217	+ 2	-
Pendiomid 0,5mg/100g	i.v.	120'	5	125	137	+12	5%	215	220	+ 5	5%
Oestron- sulfat 50γ/100g 30' nach	s.c.	20'	5	123	120	- 3	2%	208	211	+ 3	-
Pendiomid 0,5mg/100g	i.v.	50'	5	123	121	- 2	-	208	212	+ 4	-
Reichenh. Moor 1:500 30' nach	Bade- appl.	90'	5	137	145	+ 8	1%	205	209	+ 4	1%
Pendiomid 0,5mg/100g	i.v.	120'	5	137	157	+20	1%	205	210	+ 5	1%
Forapin 0,2ml/100g 30' nach	i.c.	20'	6	111	118	+ 7	5%	182	179	- 3	-
Pendiomid 0,5mg/100g	i.v.	40'	6	111	118	+ 7	5%	182	175	- 7	-
Pendiomid 0,5mg/100g	i.v.	60'	5	130	133	+ 3	-	239	233	- 6	-
		80'	5	130	130	± 0	-	239	239	± 0	-

T a b e l l e 80

Einfluß von Pendiomid bei i.v. Applikation auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading unter Prednisolon s.c., Oestroneulfat s.c., Reichenhaller Moorbad, Forapin i.c. und Pendiomid allein bei intakten Ratten (nach O e s t r e i c h ⁵, K r o t t ⁶ und S c h w a l b a c h ³)



VIII 5 mg Desmorsulfat 100 g s.m.t.
 IX 0.5 mg Pendiolamid 100 g i.v. bei int. R.
 X 0.5 mg Pendiolamid 100 g i.v. bei int. R.

Abb. 27

Besprechung der Ergebnisse:

Die Versuchsergebnisse zeigen, daß nach Applikation von Pendiomid als Ganglienblocker die sonst in Versuchsgruppe 1 untersuchten hyaluronidasehemmenden Substanzen keine Hemmung des Hyaluronidase-spreadings bewirken.

Pendiomid allein zeigt in entsprechenden Versuchen ebenfalls keinen bzw. einen sehr geringen hemmenden Einfluß auf das Hyaluronidase-Spreading.

Analog den Versuchen mit Adrenalin- und Noradrenalinapplikation bei adrenaletomierten Tieren war zu erwarten, daß der hyaluronidasehemmende Effekt des Adrenalins und Noradrenalins unter Pendiomid als Ganglienblocker erhalten bleibt. Diese Tatsache zeigt, daß der Wirkungsablauf hyaluronidasehemmender Substanzen nur das Nebennierenmark, nicht aber periphere Ganglien berührt.

- 1) Bachmann, R.: Handbuch der mikrosk. Anatomie d. Menschen. VI/5, 222,
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg
- 2) Eichholtz, F.: Lehrbuch der Pharmakologie
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1957
- 3) Schwalbach, K.P.: Diss. München 1959
- 4) Will, E.: Diss. München 1960
- 5) Oestreich, G.: Diss. München 1960
- 6) Krott, H.: Diss. München 1960

Untersuchung zur hyaluronidasehemmenden Wirkung des Reserpins

Wie in den Versuchsgruppen gezeigt werden konnte, war für eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität lediglich eine relative Niveaudifferenz des Katecholaminblutspiegels, nicht aber ein Absinken auf die Normalhöhe notwendig.

In der folgenden Versuchsgruppe soll unter Verwendung von Reserpin geklärt werden, ob auch ein Absinken des normalen Katecholaminblutspiegels auf erniedrigte Werte hemmend auf das Hyaluronidase-Spreading wirkt. Siehe Tabelle 81 und 82 und Abbildung 28.

K r o n e b e r g u n d S c h ü m a n n ¹, Z b e n d e n u n d S t u d e r ², S c h m i d t ³, H o l t z ⁴, C a l l i n g - h a m u n d M a n n ⁵, M a x w e l l , P l u m m e r , O s b o r n e u n d R o s e ⁶, u n d K r o n e b e r g ⁷ k o n n - t e n feststellen, daß Reserpin ein Absinken der Katecholamine im Nebennierenmark bewirkt, wobei nach Z b e n d e n u n d S t u d e r die Monoaminoxidase eine gewisse Rolle spielt, indem sie die Verarmung des Nebennierenmarkes an Katecholaminen verhindert.

Es war nun interessant zu prüfen, ob und wie weit Reserpin eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität zur Folge hat und wie sich die Reserpinwirkung unter dem Einfluß des Adrenolyticums Ergotamintartrat und des Ganglienblockers Pendiomid verhält ⁸.

Außerdem sollte geklärt werden, inwieweit durch Reserpin auch die Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark mit Erhöhung des Blutkatecholaminspiegels nach Na-Salicylat und Phenylbutazon gestört und die durch Adrenalin erzeugte Hyaluronidasehemmung aufgehoben wird ^{9, 10}.

Schließlich sollte untersucht werden, wie sich die Hyaluronidaseaktivität nach zweimaliger Reserpingabe verhält.

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Reserpin 0,05mg/ 100g intakte Ratten	s.c.	30'	5	126	120	- 6	5%	210	161	-49	1%
		60'	6	122	110	-12	1%	216	124	-92	1%
		90'	5	122	112	-10	5%	218	144	-74	1%
		120'	6	136	122	-14	1%	223	198	-25	1%
		150'	5	148	141	- 7	-	274	264	-10	5%
Reserpin 0,05mg/ 100 g adrenal. Ratten	s.c.	60'	5	137	120	-17	1%	203	194	- 9	-
Reserpin 0,05mg/ 100 g 30' nach Ergotamin 0,8mg/100g	s.c.	60'	5	147	140	- 7	-	209	152	-57	1%
Reserpin 0,05 mg/ 100 g 30' nach 15' nach 45' nach Pendiomid 5 mg/Tier	s.c.	60'	5	141	131	-10	5%	224	166	-58	1%
		60'	5	141	134	- 7	-	225	142	-83	1%
		60'	5	153	147	- 5	-	244	190	-54	1%
	i.v.										

T a b e l l e 81

Einfluß von Reserpin bei s.c. Applikation bei intakten und adrenaletomierten Ratten, sowie von Reserpin s.c. mit Ergotamintartrat s.c. bzw. Reserpin s.c. mit Pendiomid i.v. bei intakten Ratten auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading (nach Eckelmann⁸)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Reserpin 0,05mg/ 100 g	s.c.										
10' vor		50'	5	123	117	- 6	-	217	166	-51	1%
60' vor		50'	5	123	115	- 8	1%	213	162	- 5	1%
150' vor		50'	5	120	115	- 5	-	225	217	- 8	-
Na-Salicyl. 50mg/100 g	s.c.										
Reserpin 0,05 mg/ 100 g	s.c.										
10' vor		60'	5	126	115	-11	1%	217	184	-33	1%
60' vor		60'	6	118	117	- 1	-	221	192	-29	1%
150' vor		50'	5	124	111	-13	5%	222	217	- 5	-
Phenyl- butazon 20mg/100g	s.c.										
Reserpin 0,05 mg/ 100 g	s.c.										
150' vor		15'	6	125	119	- 6	1%	204	198	- 6	1%
Adrenalin 1 μ /100 g intakte R.	i.v.										
Reserpin 0,05 mg/ 100 g	s.c.										
150' vor		15'	5	135	120	-15	-	209	200	- 9	-
Adrenalin 1 μ /100 g adr. Rat.	i.v.										
Reserpin 0,05 mg/ 100 g	s.c.										
150' nach		60'	5	123	118	- 5	1%	216	193	-23	1%
Reserpin 0,05 mg/ 100 g	s.c.										

T a b e l l e 82

Einfluß von Reserpin bei s.c. Applikation mit Na-Salicylat s.c., Phenyl-
butazon s.c. und Adrenalin i.v. sowie von zweimaliger s.c. Reserpinappli-
kation auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei in-
takten bzw. adrenaletomierten Ratten (nach M e c k e l ⁹⁾)

	Leerwert	phys. NaCl	60' nach 0,05 mg Reserpin	80' nach 0,05 mg Reserpin	120' nach 0,05 mg Reserpin	180' nach 0,05 mg Reserpin
N	5	5	5	5	5	5
Katecholamin- gehalt der NN /100 g Tier in γ	21,87	20,02	20,47	22,43	20,12	20,56

	120' nach Reserpin u. Acetylsalicylsäure	30' nach Reserpin u. Phenylbutazon	180' nach Reserpin u. Phenylbutazon
N	5	5	5
Katecholamin- gehalt der NN /100 g Tier in γ	18,19	24,12	20,20

T a b e l l e 82a

Katecholamingehalt der Nebennieren nach s. c. Applikation von Reserpin sowie Reserpin s.c. mit Acetylsalicylsäure s.c. und Phenylbutazon s.c. bei intakten Ratten (nach

H e i n e r i c h ¹⁰⁾

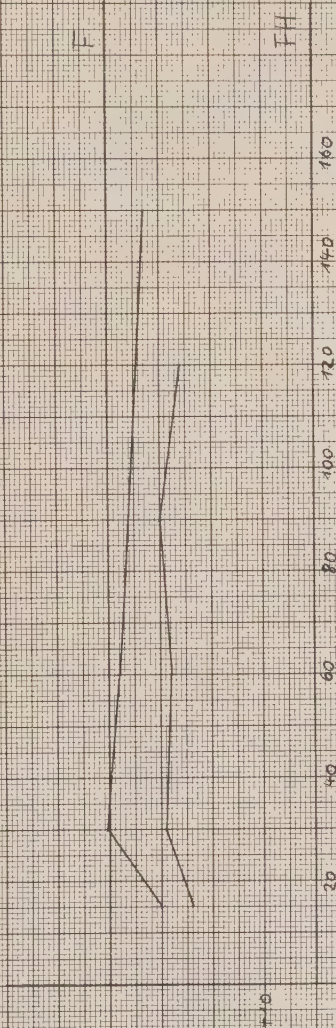
	Leerwert	phys. NaCl	60' nach 0,05 mg Reserpin	80' nach 0,05 mg Reserpin	120' nach 0,05 mg Reserpin	180' nach 0,05 mg Reserpin
N	5	5	5	5	5	5
Ascorbinsäuregehalt der NN /mg NN in y	4,17	3,72	3,04	2,80	3,35	4,35

	120' nach Reserpin u. Acetylsalicylsäure	30' nach Reserpin u. Phenylbutazon	180' nach Reserpin u. Phenylbutazon
N	5	5	5
Ascorbinsäuregehalt der NN /mg NN in y	2,72	3,53	2,34

T a b e l l e 82b

Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren nach s.c. Applikation von Reserpin sowie Reserpin s.c. mit Acetylsalicylsäure s.c. und Phenylbutazon s.c. bei intakten Ratten (nach

H e i n e r i c h ¹⁰⁾



- I 0,05mg Reserpin / 100g (intakt R) 1sc.
- II 10mg Joroniacid / 100g int. R. 1m.
- III 10mg Joroniacid / 100g madren. pkt R
- IV 10mg Joroniacid / 100g int. R. 1m.
- V 100mg Pendiomid / 100g int. R. 1m.
- VI 10mg Ergotamin / 100g int. R. 1m.
- VII 10mg Joroniacid / 100g 1m.

Abb 28

Besprechung der Ergebnisse:

Aus den vorliegenden Versuchsergebnissen ist ersichtlich, daß Reserpin eine ausgeprägte Hemmung des Hyaluronidase-Spreadings bewirkt, die auch noch nach vorheriger Applikation von Pendiomid als Ganglienblocker und Ergotamintartrat als Adrenolyticum erhalten bleibt.

Bei adrenaletomierten Tieren tritt diese Hemmung nicht auf. Auf Grund der früheren Untersuchungen muß angenommen werden, daß auch Reserpin ein Absinken des Katecholaminblutspiegels bewirkt und auf diese Weise die Hyaluronidasehemmung herbeiführt. Dabei ist ein Absinken des Katecholaminblutspiegels nach vorheriger Erhöhung durch Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark auszuschließen, da weder Adrenolytica noch Ganglienblocker einen Einfluß auf den hyaluronidasehemmenden Effekt hatten. Dies spricht dafür, daß Reserpin den Katecholaminblutspiegel unter das Normalniveau senkt.

Daß bei adrenaletomierten Ratten nach Reserpinapplikation keine Hemmung auftritt, ist wohl auf den nach der Adrenaletomie bereits extrem gesenkten Katecholaminblutspiegel zurückzuführen, der die für eine Hemmung der Hyaluronidase erforderliche Niveaudifferenz von über 0,5 μ /100 g Tier nicht mehr zuläßt.

Blockierende Eigenschaften zeigt das Reserpin in Verbindung mit Natriumsalicylat und Phenylbutazon, wenn es in genügend großem Abstand (150 min) vor diesen in vivo hyaluronidasehemmenden Substanzen appliziert wird. Dieser blockierende Effekt des Reserpins erstreckt sich auch auf die Hyaluronidasehemmung durch Adrenalin, wodurch ein evtl. vorliegender ganglienblockierender Mechanismus mit Verhinderung der Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark ausgeschlossen werden kann. Es müßte vielmehr zu einem direkten sofortigen Abbau oder Blockieren des Adrenalins durch Reserpin kommen, um eine auch nur vorübergehende Katecholaminblutspiegelerhöhung zu verhindern.

Die nach zwei, in Abständen von 150 Minuten, erfolgten Reserpin-Injektionen auftretende weitgehende Verminderung der Hyaluronidasehemmung könnte damit erklärt werden, daß der Blutspiegel durch

die erste Reserpinapplikation bereits weitgehend gesenkt wurde. Ein anderer Mechanismus der Reserpinwirkung könnte in der Blockierung der Adrenalinwirkung an einem sich weiter in der Peripherie befindenden Angriffspunkt liegen.

Damit wäre erklärt, daß die Katecholaminausschüttung nach Natrium-Salicylat und Phenylbutazon nicht zur Wirkung kommt und die Hyaluronidasehemmung durch Reserpin selbst ausgelöst würde, da die Blockade der Wirkung des normalen Katecholaminblutspiegels funktionell einem Absinken des Spiegels gleich käme. Ganglienblocker und Adrenolytica hätten auch nach dieser Betrachtungsweise keinen Einfluß auf die spreadinghemmende Wirkung des Reserpins.

- 1) Kroneberg, G. u. Schümann, H. J.: Arzneimittelforsch. 7, 279 (1957)
- 2) Zbenden, G. u. Studer, A.: *Experientia* XIV, 201 (1958)
- 3) Schmidt, K.: Wiener klin. Wschr. 69, 27 (1957)
- 4) Holtz, P.: Dtsch. med. Wschr. 83, 681 (1958)
- 5) Callingham, B. A. u. Mann, M.: *Nature*, 182, 1020 (1958)
- 6) Maxwell, A., Plummer, A. J., Osborne, M. W., Rose, S.:
J. Pharm. Exp. Ther. 116, 1 (1956)
- 7) Kroneberg, G.: Pharm. Zeitg. 102, 1193 (1957)
- 8) Eckelmann, R.: Diss. München 1961
- 9) Meckel, E.: Diss. München 1961
- 10) Heinerich, K.: Diss. München 1959

Einfluß monoaminoxydasehemmender Substanzen auf die
Hyaluronidaseaktivität im
Spreadingtest

Nachdem gezeigt werden konnte, daß die Voraussetzung für ein Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung ein Abfall des Katecholaminblutspiegels ist, wäre es interessant, das Verhalten der Hyaluronidaseaktivität nach Applikation einer monoaminoxydasehemmenden Substanz zu untersuchen¹². Bekanntlich katalysiert die Monoaminoxydase den Abbau biogener Amine, die durch oxydative Decarboxylierung von verschiedenen Aminosäuren stoffwechselaktive Eigenschaften besitzen¹. Dazu gehören das in der Klinik gebräuchlichste Serotonin, Adrenalin und Noradrenalin.

Untersuchungen mit Monoaminoxydasehemmern ließen erwarten, daß die Wirkung der biogenen Amine, in unserem Falle des Adrenalins und Noradrenalins, über längere Zeit erhalten bliebe, als es ohne Blockierung der Monoaminoxydase der Fall wäre. Nach den bisherigen Ergebnissen von M a t h i e s und Mitarbeitern müßte eine Blockierung der Monoaminoxydase, indem der Abbau der Katecholamine verhindert bzw. verzögert wird, die durch einen Katecholaminabbau bedingte Hemmung der Hyaluronidaseaktivität aufheben bzw. verzögern. Die in dieser Versuchsreihe verwendete monoaminoxydasehemmende Substanz war Iproniacid (Isopropylisonicotinsäurehydrazid, Marsilid), dessen Wirkung auf die Monoaminoxydase bereits 1952 von Z e l l e r und B a r s k y² beobachtet wurde.

Die Messung der Monoaminoxydaseaktivität wird mit Hilfe der Warburg-Apparatur durchgeführt, die auf der manometrischen Registrierung der O_2 -Aufnahme durch homogenisiertes Gehirngewebe normaler Ratten und solcher, denen 20 Stunden vorher 100 mg Iproniacid/kg Tier i.m. appliziert worden war, beruht.

Die als Eigenatmung bezeichnete O_2 -Aufnahme der Gehirnhomogenate ist zunächst in beiden Versuchsreihen gleich, steigt jedoch bei der Normalreihe, wenn Serotonin oder Tyramin zugefügt wird, während sie bei der Iproniacidreihe unter den gleichen Bedingungen unter den Normalwert sinkt. Dafür läßt sich folgende Erklärung finden: Das biogene Amin hemmt eine O_2 -verbrauchende Reaktion der homogeni-

sierten Gehirns substanz, wobei in der Normalreihe diese Reduzierung des O_2 -Verbrauchs durch den vermehrten O_2 -Bedarf der oxydativen Desaminierung des zugefügten biogenen Amins überdeckt wird.

Da aber in der Iproniacid-Reihe die oxydative Desaminierung des biogenen Amins blockiert ist, tritt hier die Verminderung des O_2 -Verbrauchs in Erscheinung. An Hand des O_2 -Verbrauchs kann also indirekt die Aktivität monoaminoxydasehemmender Substanzen bestimmt werden.

Folgende, ebenfalls im Sinne einer Monoaminoxydasehemmung zu diskutierende Wirkungen des Iproniacid liegen im Hinblick auf die Barbituratnarkose und das Reserpin vor. F o u s t und B r o d i e ³ und G o l d i n und Mitarbeiter ⁴ sahen, daß Iproniacid 0,5 bis 3 Stunden vor einer Evipan-Narkose die Barbiturwirkung sichtlich steigert, was sie damit erklärten, daß Iproniacid in der Leber barbituratabbauende Fermente hemmt. Das Gegenteil, also eine Verkürzung der Narkosedauer tritt ein, wenn Iproniacid 22 bis 24 Stunden vor Beginn der Narkose appliziert wird ⁵. Diese Tatsache wird dahingehend interpretiert, daß Iproniacid nach dieser Zeit durch Hemmung der Gehirn-Monoaminoxydase den Abbau des stimulierenden Serotonins im Gehirn verhindert. Iproniacidbehandlung vor Reserpin-Applikation hemmt in Tierversuchen nicht nur die sedative Wirkung des Reserpins, sondern ruft sogar Erregungszustände hervor ⁶.

Nach Reserpin-Applikation erfolgt im Gehirn eine Ausschüttung des stimulierenden Serotonins, das daraufhin sehr schnell durch die Monoaminoxydase abgebaut wird. Ist jedoch die Monoaminoxydase durch Iproniacid blockiert, potenziert sich die Wirkung des freigesetzten Serotonins im Sinne einer zentralnervösen Erregung. Gleiche Ergebnisse zeigten Untersuchungen über den Einfluß von Iproniacid auf die durch Reserpin erzeugte Freisetzung von Adrenalin und Noradrenalin aus dem Nebennierenmark ⁷. Unsere Ergebnisse ¹² gehen aus Tabelle 83 und Abbildung 28 hervor.

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p
Iproniacid 10mg/100g	i.m.	15'	6	124	114	-10	-	189	143	-46	0,1%
		30'	6	134	123	-11	-	227	148	-79	0,1%
intakte Ratten		45'	6	124	108	-16	-	189	123	-66	0,1%
		60'	6	134	127	- 7	-	227	149	-78	0,1%
Iproniacid 10mg/100g adrenal. Ratten	i.m.	30'	4	141	137	- 4	-	189	177	-12	0,1%
		60'	4	141	132	- 9	-	189	168	-21	0,1%
Iproniacid 10mg/100g 4 Std. spät. Adrenalin 1γ/100 g int. Rat.	i.v.	15'	4	147	131	-16	1%	260	212	-48	1%
		60'	4	111	102	- 9	-	195	128	-67	0,1%
		90'	4	111	102	- 9	-	195	125	-70	0,1%
		120'	4	147	134	-13	1%	260	194	-66	1%
Pendiomid 10mg/100g davon: 5mg 30'vor 5mg 10'nach Iproniacid 10mg/100g int. Rat.	i.v.	30'	4	155	141	-14	-	235	210	-25	0,1%
		60'	4	155	147	- 8	-	235	192	-43	0,1%
Ergotamin 1,6mg/100g davon: 0,8mg30'vor 0,8mg10'nach Iproniacid 10mg/100g int. Rat.	s.c.	30'	4	150	150	± 0	-	225	198	-27	1%
		60'	4	150	148	- 2	-	225	187	-38	1%

T a b e l l e 83

Einfluß von Iproniacid bei i.m. Applikation sowie von Iproniacid mit Adrenalin i.v., Pendiomid i.v. und Ergotamintartrat s.c. auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei intakten bzw. adrenalectomierten Ratten (nach Reindl¹²⁾)

Besprechung der Ergebnisse:

Die Untersuchungsergebnisse zeigen, daß Iproniacid als monoaminoxydasehemmende Substanz eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität hervorruft. Wollte man diese Tatsache auf eine Hemmung des Katecholaminabbaus durch Iproniacid zurückführen, so müßte durch die Hemmung des Katecholaminabbaus der normale Katecholaminspiegel zunächst ansteigen, um dann bei gleichbleibender monoaminoxydasehemmender Wirkung und Katecholaminausschüttung auf niedrigere Werte abfallen.

Gegen diese Interpretation spricht der Zeitpunkt der maximalen Hyaluronidasehemmung, der 15 min post applikationem liegt. Ebenfalls dagegen sprechen Versuchsergebnisse von Resnick und Mitarbeitern⁸ sowie Friend und Mitarbeitern⁹, die keine weitere Erhöhung des nach experimenteller Noradrenalinzufuhr erzielten Katecholaminblutspiegels durch monoaminoxydasehemmende Substanzen fanden.

Zeller und Barsky² sowie Zbinden und Studer⁷ wiesen im Gehirn, in der Leber und im Nebennierenmark an verschiedenen biogenen Aminen nach, daß es sich bei der Monoaminoxydasehemmung um eine Gewebsreaktion handelt, die nach Pletscher¹⁰ eine Ansammlung von Katecholaminen in den Organen bewirkt, deren Freisetzung hemmt und die Bindung an strukturelle Elemente in den Zellen verstärkt.

Demnach könnte die laufende Freisetzung von Katecholaminen aus dem Nebennierenmark durch Iproniacid gehemmt sein, so daß der normale Blutkatecholaminspiegel absinkt und so die Hyaluronidasehemmung auslöst. Diese Annahme wird gestützt durch den Befund, daß bei adrenalectomierten Ratten die Hyaluronidasehemmung nach Iproniacid wesentlich geringer ist, so daß man eine Zurückhaltung von Katecholaminen im sonstigen chromaffinen Gewebe annehmen kann.

Weder Ganglienblocker noch Adrenolytica vermögen die durch Iproniacid ausgelöste Hyaluronidasehemmung zu blockieren, wenn auch eine geringe Abschwächung der hyaluronidasehemmenden Wirkung verzeichnet werden kann. Trotzdem läßt sich in Verbindung mit dem oben Beschriebenen aussagen, daß das Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung hier nicht wie bei den anderen hyaluronidasehemmenden Substanzen über

eine Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark erfolgt.

Wenn man einen Zusammenhang zwischen Hyaluronidasehemmung und anti-rheumatischen Effekt annehmen will, spricht hierfür die von S c h e r b e l und H a r r i s o n ¹¹ beschriebene antirheumatische Wirkung des Iproniacid. Nach Applikation größerer Dosen (150 mg/die) konnte für die Dauer der Behandlung ein Rückgang der entzündlichen Gelenkerscheinungen festgestellt werden. Andere Mono-aminoxydasehemmer verhielten sich ähnlich.

- 1) Leuthardt, F.: Lehrbuch physiol. Chemie. Verl. Walter de Gruyter, 13. Aufl. 390
- 2) Zeller, E. u. Barsky, J.: Proc. Soc. exp. Biol. 81, 459 (1952)
- 3) Foust, J. u. Brodie, B.: J. Pharm. 116, 480 (1956)
- 4) Goldin, A. u. Mitarb.: Science 121, 364 (1955)
- 5) Holtz, P. u. Balzer, H.: Arch. exp. Path. Pharmacol. 231, 333 (1957)
- 6) Besendorf, H. u. Pletscher, A.: Helvet. physiol. Acta 14, 383 (1956)
- 7) Zbinden, G. u. Studer, A.: Experientia XIV, 201 (1958)
- 8) Resnick, O. u. Mitarb.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 80, 820 (1959)
- 9) Friend, D., Zileti, M., Hamlin, J. u. Reutter, F.: J. clin. exp. Psychopath. u. Rev. Psychiat. Neurol. 19, 2 Suppl. 1, 61; zit. Resnick, O. (8)
- 10) Pletscher, A.: Experientia 14, 73 (1958)
- 11) Scherbel, A. u. Harrison, J.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 80, 820 (1959)
- 12) Reindl, W.: Diss. München 1960

Das Verhalten der Hyaluronidaseaktivität bei länger dauern-
der Applikation hyaluronidasehemmender Substanzen

Die Tatsache, daß bei Verabreichung verschiedener antirheumatisch wirksamer Substanzen eine Besserung des Befindens erst nach einer gewissen Latenzzeit eintritt, macht es besonders interessant, die von einigen diesen Stoffen ausgelöste Hyaluronidasehemmung über längere Zeit zu beobachten.

Versuchsreihe 1:

Einem Teil der Tiere wurde Chloroquin täglich per Schlundsonde pro 100 g Tier

im 1. Monat 1,2 mg
im 2. und 3. Monat 3 mg

verabreicht.

Die andere Hälfte der Tiere bekam

in der 1. Woche 10 mg
in der 2., 3., 4. und 5. Woche 1,2 mg
in der 6., 7. und 8. Woche 1,2 mg Chloroquin.

Bei 11 Tieren wurde die Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel nach einmonatiger, des weiteren 1 Tag, 1 Woche und 4 Wochen nach zweimonatiger Chloroquin-Verabreichung gemessen. Bei 4 Tieren erfolgte die Messung 1 Tag nach einmonatiger, 1 Tag nach zweimonatiger und 1 Woche und 4 Wochen nach dreimonatiger Chloroquingabe. Siehe Tabelle 85 und Abbildung 29.

Versuchsreihe 2:

Die Tiere wurden jeden zweiten Tag über 30 Tage in Moor gebadet und zwei Tage nach dem letzten Bad und weitere vier Wochen später das Ausmaß der Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel bestimmt. Siehe Tabelle 85 und Abbildung 29.

Versuchsreihe 3:

Bei einem Teil der Tiere wurde Chloraethylbenzmethoxazon vier Wochen täglich durch die Schlundsonde in Äthernarkose verabreicht. Anschließend daran und nach weiteren sechs behandlungsfreien Wochen wurde die Messung der Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel vorgenommen. Der andere Teil der Tiere wurde bei gleicher Methodik jeweils nach vierwöchiger und nach weiterer neunwöchiger Fütterung mit Chloraethylbenzmethoxazon gequaddelt. Siehe Tabelle 84 und Abbildung 29.

Versuchsreihe 4:

Die Tiere wurden vier Wochen lang unter täglichen Oestroneulfatgaben von 50 γ /100 g Tier gehalten und im Anschluß daran die Hyaluronidaseaktivität bestimmt. Weitere vier Wochen blieben die Tiere applikationsfrei und wurden erst dann wieder gequaddelt. Siehe Tabelle 84 und Abbildung 29.

Versuchsreihe 5:

Die Versuchstiere wurden insgesamt zwölf Wochen mit Acetylsalicylsäure gefüttert und die Hyaluronidasehemmung acht und zwölf Wochen nach Beginn der Fütterung, sowie drei Wochen nach Beendigung der Fütterung bestimmt. Acetylsalicylsäure wurde oral durch die Schlundsonde verabreicht. Die Dosis betrug anfangs 20 mg/100 g Tier, später 10 mg/100 g Tier, da sich die Anfangsdosis als unverträglich erwies. Siehe Tabelle 84 und Abbildung 29.

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel				
				vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	Diff. mm ²	p	
Acetylsali- cylsäure anfangs 20 mg/100g später 10mg/100 g	oral	n. 9	9	137	140	+ 3	-	249	195	-54	1%	
		Wo.	9	137	143	+ 6	-	246	203	-43	2%	
		n.13	9	137	142	+ 5	-	249	170	-79	1%	
		Wo.	9	137	142	+ 5	-	246	170	-76	1%	
		3 Wo. appl. frei.	n.16	9	137	145	+ 8	-	249	190	-59	1%
		Wo.	9	137	144	+ 7	-	246	193	-53	1%	
Oestron- sulfat 50γ/100g	s.c.	n. 4	20	136	132	- 4	-	239	193	-46	1%	
		Wo.	20	136	139	+ 3	-	239	208	-31	1%	
Chloräthyl- benzmeth- oxazon 0,03g/100g	oral	n. 4	12	136	135	- 1	-	247	247	± 0	-	
		Wo.	6	128	137	+ 9	-	233	193	-40	0,1%	
		6 Wo. appl. frei.	n.10	12	136	137	+ 1	-	247	245	- 2	-
		Wo.	n. 13	6	128	134	+ 6	-	233	209	-24	2%
		Wo.										

T a b e l l e 84

Einfluß von langdauernder Applikation von Acetylsalicylsäure oral, Oestron-
sulfat s.c. und Chloräthylbenzmethoxazon oral auf das Farbstoff- und Farb-
stoff-Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten (nach Probst⁵,
Esper⁴ und Schwank³)

Substanz Dosis	Versuchs- Appli- kation	Zeit nach Applik.	N	Farbstoff-Quaddel				Farbstoff-Hyase-Quaddel			
				vor mm 2	nach mm 2	Diff. mm 2	p	vor mm 2	nach mm 2	Diff. mm 2	p
Chloroquin 10mg/100g anfangs 1,2mg/100g später 3mg/100g	oral	1 Tg n. 4 Wo	10	125	124	- 1	-	242	187	-55	1%
		1 Wo n. 9 Wo	10	125	132	- 7	5%	242	210	-32	1%
		4 Wo n.12 Wo.	10	125	140	+15	1%	242	238	- 4	-
		1 Tg n. 4 Wo	4	130	125	- 5	-	235	194	-41	1%
		1 Tg n. 8 Wo	4	130	120	-10	5%	235	180	-55	1%
		1 Wo n.12 Wo	4	130	148	+18	1%	235	214	-21	1%
		4 Wo n.12 Wo	4	130	140	+10	-	235	229	- 6	-
Adrenalin 2y/100 g	s.c.	3 Wo appl. frei n. 7 Wo	5	135	147	+12	-	225	225	± 0	-
Neydhart. Moorschweb- stoff 1:500 20', 35-37°C	Bade- appl.	n. 4 Wo.	25	131	130	- 1	-	248	178	-70	1%
		4 Wo appl. frei n. 8 Wo	25	131	131	± 0	-	248	190	-58	1%

T a b e l l e 85

Einfluß von langdauernder Applikation von Chloroquin oral, Adrenalin s.c. und von Neydhartinger Moorschwebstoffbädern auf das Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten (nach Fumy¹, Bauke⁶, Haupt²)

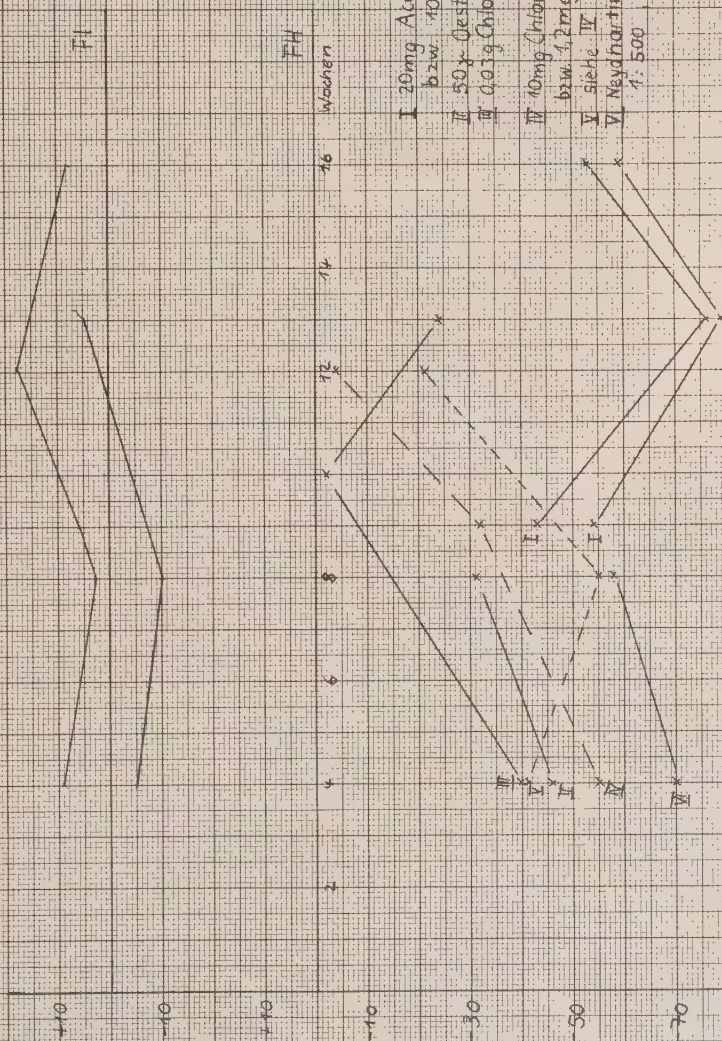


Abb. 29

Besprechung der Ergebnisse:

Die hier vorliegenden Versuchsergebnisse zeigen, daß nach längerer Applikation hyaluronidasehemmender Substanzen auch noch nach einigen medikationsfreien Wochen eine signifikante Hyaluronidasehemmung zu beobachten ist, wobei die Dauer der anhaltenden Hyaluronidasehemmung bei den einzelnen Substanzen verschieden ist.

Wie E s p e r ⁴, H a u p t ² und P r o b s t ⁵ zeigen konnten, ist es möglich, auch die langdauernde Hyaluronidasehemmung durch Ergotamintartrat bzw. Protaminsulfat aufzuheben.

Es ist deshalb wahrscheinlich, daß dieser Effekt durch eine laufende vermehrte Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark bewirkt wird, wobei es sich nach M a t h i e s ⁷ und S c h e u f e l e ⁸ nicht um eine kontinuierliche Katecholaminausschüttung sondern vielmehr um eine stoßweise Freisetzung dieser Substanz handelt.

- 1) Fumy, A.: Diss. München 1959
- 2) Haupt, E.: Diss. München 1959
- 3) Schwank, M.: Diss. München 1960
- 4) Esper, U.: Diss. München 1960
- 5) Probst, M.: Diss. München 1959
- 6) Bauke, A.: Diss. München 1962
- 7) Mathies, H.: Arch. int. pharmacodyn. CXXIII, 334 (1960)
- 8) Scheufele, R.: Diss. München 1958

Diskussion

Eine hyaluronidasehemmende Wirkung der gebräuchlichsten Antirheumatica ist bereits verschiedentlich nachgeprüft und bewiesen worden, so für die Salicylate, ACTH, Cortison, die Oestrogene, Echinacea purpurea, die Roßkastanie und Moor- und Schwefelbäder.

D o m e n j o z und Mitarbeiter ¹ untersuchten den Einfluß von Acetylsalicylsäure, Na-Salicylat, Aminopyrin, Amizol, Antipyrin, Diphenox, Metamizol und Phenylbutazon auf das Formalinödem der Ratte (0,1 ccm 3%ige Lösung Formalin s.c. in die Plantarseite der Hinterpfote) und stellten fest, daß die Schwellung unter dem Einfluß der injizierten Antirheumatica gehemmt wurde. Zu denselben Ergebnissen führten Versuche mit diesen Substanzen am Dextranödem, wobei die Aktivität der einzelnen Präparate zum Teil sehr verschiedenen von der Wirkung auf das Formalinödem ist ¹.

Nach Untersuchungen von H a l p e r n und B r i o t ² und M o r r i s o n und Mitarbeitern ³ sollen im Gegensatz zum Formalinödem die Reaktionen der Ratte auf Dextran auf allergische Vorgänge zurückzuführen sein.

Auch beim Hyaluronidaseödem konnte eine Hemmung durch die oben genannten Antiphlogistica und durch Cortison, ACTH und Cinchophen festgestellt werden, wobei hier ebenfalls die Intensität einzelner Präparate unterschiedlich im Vergleich zum Dextran- und Formalinödem war. Im Hyaluronidasetest in vitro (Viskositätstest) konnte mit Ausnahme von Na-Salicylat und Phenylbutazon in höheren Dosen keine spezifische Fermenthemmung gefunden werden, was darauf hindeutet, daß die Hyaluronidasehemmung zum Teil auf einer unspezifischen Beeinflussung der Ödembildung in vivo beruht.

Es sind nun bisher in zahlreichen Versuchen die gebräuchlichsten Antirheumatika in Bezug auf ihre hyaluronidasebeeinflussende Wirkung getestet worden. In der folgenden Aufstellung sollen die mit unterschiedlicher Methodik gewonnenen Ergebnisse in der Beeinflussung der Hyaluronidaseaktivität durch Antirheumatika den unseren gegenübergestellt werden.

K e l e m e n ⁴ führte mit Hilfe des Rattenpfotenödem-Testes

Untersuchungen mit ACTH, Cortison, Adrenalin und Salicylat an Normaltieren und adrenaletomierten Tieren durch. Er injizierte dabei hyaluronidasehaltige Hodenextrakte in die Hinterpfoten von Albinoratten, wonach in einem gewissen Zeitabstand eine polsterartige Schwellung mit einem ausgeprägten Ödem der Pfote entsteht, das bei Gabe der angeführten Antirheumatika in Anwesenheit des Nebennierenmarks wesentlich geringere Ausmaße annimmt.

K e l l e m e n ⁴ bezeichnete dieses Verfahren als Permeabilitätstest, weil neben der Hyaluronidase auch noch andere biologisch aktive Präparate in den Extrakten vorhanden waren.

Für Phenylbutazon, Prednisolon, Adrenalin, natürlichen Moorbrei, Moorschwebstoff und Huminsäuren konnte L o t h m a r ⁵ ebenfalls eine Hemmung der Hyaluronidase mittels Diffusionstest feststellen. Dieser Diffusionstest bestand in der Messung einer Sulfationenauswanderung aus dem Kreislauf auf einem bestimmten Hautbezirk, wobei im Vorversuch die normale Auswanderung der Testionen - es wurden radioaktive Sulfationen verwandt - nach Hyaluronidaseinjektion ermittelt wurden. Im eigentlichen Testversuch wurde lediglich außer der Hyaluronidase die zu prüfende Substanz injiziert. Die zu untersuchenden Stoffe selbst zeigten keine auf den Kreislauf bzw. die Epithelpermeabilität wirkenden Eigenschaften. Bei Applikation der von ihr verwandten Huminsäure allein erfolgte keine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität.

J ü r g e n s und B ä c h t h o l d ⁶ konnten bei Versuchen mit Na-Salicylat feststellen, daß diese Substanz eine hemmende Wirkung auf die Permeabilität der Synovialmembran ausübt. Sie prüften das Präparat mit dem sog. Seifertest, indem sie Versuchstieren intraarticular einen Farbstoff (Phenolrot) injizierten und daraufhin die Geschwindigkeit testeten, mit der der Farbstoff resorbiert wurde.

P e l l o j a ⁷ kam zu dem Ergebnis, daß Salicylate die Hyaluronidaseaktivität nur in vivo, nicht aber in vitro hemmen können und wurde durch Beobachtungen von C o c h r a m ⁸, wonach sich bei Rheumatikern nach längerer Behandlung mit Salicylaten ein Morbus Cushing ausbildet, auf das Hypophysen-Nebennieren-System aufmerksam, das evtl. für die alleinige Wirkung in vivo verant-

wortlich zu machen sei. Gestützt wurde seine Theorie von der Histologie der Nebennierenrinde nach längerer Salicylatmedikation, die die gleiche Veränderung wie nach ACTH-Behandlung zeigte, nämlich eine Hypertrophie der Zona fasciculata mit Verlust an Cholesterin, während die Zona glomerulosa wesentlich schmaler und ohne Lipoidgranula war. Außerdem führte der Autor das Absinken des Ascorbinsäuregehaltes der Nebennierenrinde nach Salicylaten und eine Blockierung dieses Effektes nach Hypophysektomie als weiteren Beweis an. Pellaja⁷ verwendete in seinen Versuchen ebenfalls den Spreadingtest an Ratten und kam zu dem Ergebnis, daß nach Entfernung der Nebennieren eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität durch Salicylate nicht mehr nachgewiesen werden kann, die Hypophysektomie dagegen keinen Einfluß auf die spreadinghemmende Wirkung der Salicylate besitzt. Bei Versuchen mit ACTH und Cortison kam der Autor zu den gleichen Ergebnissen. Über diese Substanzen berichten neben Pellaja⁷ auch Schoen und Tischeendorf⁹.

Nach Flaschenträger und Lehnartz¹⁰ ist auch Vitamin E imstande, die Aktivität der Hyaluronidase zu hemmen. Bei Mangel von Tocopherol konnten Aufspaltung der Bindegewebssubstanzen und Ödeme beobachtet werden.

Im Falle der Oestrogene konnte Heim¹¹ beobachten, daß nach Injektion von bakterienhaltigem Samen bei brünstigen Kaninchen nur eine geringe entzündliche Reaktion hervorgerufen wurde, während bei scheinträchtigen Kaninchen eine ausgeprägte Pyometra die Folge war. Nach einer Reihe weiterer Versuche in dieser Richtung kam Heim¹¹ zu dem Schluß, daß die für diese unterschiedliche Reaktion verantwortliche Substanz in den Oestrogenen zu suchen ist. Diese Wirkung wird dahingehend interpretiert, daß die Hormone neben der Vermehrung der Zwischenzellsubstanz Hyaluronsäure und Chondroitinschwefelsäure eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität und gleichzeitig eine Quellung der Bindegewebsfasern hervorrufen.

Ein Einfluß auf die Hyaluronidaseaktivität ist ebenfalls durch das radioaktive Badgasteiner Thermalwasser festgestellt worden, wie viscosimetrische Versuche, die nach einer vorübergehenden Förderung der Hyaluronidaseaktivität eine anhaltende Hemmung der

Spaltung von Hyaluronsäure ergaben, zeigten. Diese Ergebnisse wurden von W e n s e und P h i l a d e l p h y ¹² mit Hilfe des auch von uns angewandten Spreadingtests in vivo gefunden, wobei die Tiere mit einer einmaligen s.c. Injektion von 1-2 ccm Thermalwasser in den Rücken behandelt wurden. W e n s e ¹² konnte dabei außerdem noch feststellen, daß die Hemmwirkung auf das Hyaluronidasespreading je nach Gehalt des Thermalwassers an Radioaktivität geringer oder stärker ist.

Neben dieser Darstellung der Ergebnisse früherer Autoren zur Frage der Hyaluronidasehemmung durch Antirheumatika kommen noch zahlreiche weitere Arbeiten hinzu. Erwähnt werden müssen vor allem G i b i a n ¹³, B y w a t e r s , D i x o n und G i g g l - b e r g e r ¹⁴, K l e i n s o r g e und P o h l ¹⁵ und O p s a h l und Mitarbeiter ¹⁶ bei der Erforschung der hyaluronidasehemmenden Wirkung des ACTH, S c h m i d t und Mitarbeiter ¹⁷, S e i f t e r und Mitarbeiter ¹⁸, S c h o e n ¹⁹, B i r k e ²⁰ und W a t t e n b e r g und G l i c k ²¹ bei der des Cortisons, K v a s n i e w s k i ²², G u e r r a ²³, D o r f m a n und Mitarbeiter ²⁴, S w y e r ²⁵ und F o r r e s t und Mitarbeiter ²⁶ bei der der Salicylate, D o m e n j o z ¹ bei der des Pyrazols, S c h o e n ²⁷, S p r u n t ²⁸ und O b a l ²⁹ bei der der Oestrogene, M i l l e r und D e s s e r t ³⁰ bei der des Vitamin E, H i l l e r ³¹ bei der der Moor- und Huminbäder und E v e r s ³² bei der der Schwefelbäder.

Die Versuchsergebnisse der Versuchsgruppe 1 zeigen, daß alle geprüften Substanzen eine Hyaluronidasehemmung herbeiführen. Vergleichsversuche mit Aqua dest., auch mit Wasser als Badeapplikation bei einer Temperatur von 37°C ergaben keine Hyaluronidasehemmung. Zur Frage der Wirkungsweise dieser Hemmung der Hyaluronidaseaktivität sollte die gelegentlich geäußerte Meinung, dieser Mechanismus laufe über eine Nebennierenrinden-Aktivierung ³³, überprüft werden. Zu diesem Zweck wurden dieselben Untersuchungen an adrenalectomierten und hypophysektomierten Ratten wiederholt. Es zeigte sich, daß bei adrenalectomierten Tieren bei allen geprüften Substanzen die Hyaluronidasehemmung ausbleibt, während sie bei hypophysektomierten Tieren erhalten ist. Es steht demnach zunächst fest,

daß die Nebenniere für das Zustandekommen einer Hyaluronidasehemmung notwendig ist, wenn auch noch nicht ausgesagt werden kann, ob für diese Funktion das Nebennierenmark oder die Nebennierenrinde verantwortlich gemacht werden muß. Zur weiteren Abklärung dieser Frage wurden die Ascorbinsäuredepletionsverhältnisse unter den bisher geprüften Substanzen untersucht.

Es zeigte sich, daß bei hypophysektomierten Ratten die Ascorbinsäureabnahme ausbleibt, obwohl die Hyaluronidasehemmung erhalten ist. Es muß also angenommen werden, daß nicht die Nebennierenrinde, sondern das Mark für das Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung maßgeblich ist. Für diese Annahme spricht, daß auch die Nebennierenmark-Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin bei adrenaletomierten Tieren die Hyaluronidase hemmen. Vergleiche der Pupillenweite haben ergeben, daß die Hyaluronidasehemmung nicht während der Katecholaminwirkung selbst, sondern erst zu einem gewissen Zeitpunkt danach auftritt. In diesem Zusammenhang war zu klären, ob für das Einsetzen der Hyaluronidasehemmung eine bestimmte Zeitspanne nach der Katecholaminwirkung notwendig ist, oder der Reaktionsablauf durch die Katecholamine in Gang gebracht wird, oder erst der Abfall der Katecholaminwirkung ausschlaggebend ist.

Zu diesem Zwecke wurden adrenaletomierten Tieren Adrenalindauerinfusionen über 2 Stunden gegeben, worauf festgestellt werden konnte, daß eine Hyaluronidasehemmung während der Dauerinfusion nicht auftritt, wohl aber nach Absetzen der Infusion.

In einer weiteren Versuchsreihe wurden während der Adrenalindauerinfusion mehrmals kurzfristig erhöhte Adrenalindosen in Form von sogenannten "Spitzen" gegeben, worauf sich jeweils in einem gewissen Abstand schon während der Adrenalindauerinfusion eine Hyaluronidasehemmung einstellte, so daß angenommen werden kann, daß lediglich ein Absinken eines erhöhten Katecholaminblutspiegels auf ein niedrigeres Niveau die Hyaluronidasehemmung auslöst.

Bei intakten Ratten durchgeführte Kontrollversuche zeigten, daß bei diesen schon während der Dauerinfusion ohne "Spitzen" die Hyaluronidasehemmung eintrat. In diesem Falle war zu diskutieren, ob Adrenalin via Hypophyse eine Nebennierenrinden-Hormonausschüt-

tung hervorruft, die dann ihrerseits eine Nebennierenmark-Stimulierung und damit eine Adrenalinausschüttung bewirkt. Diese Hypothese konnte jedoch nicht durch gleiche Versuche an hypophysektomierten Tieren erhärtet werden, denn auch bei hypophysektomierten Tieren, die ja eine Unterbrechung dieses Zyklus aufweisen müßten, traten schon während der Dauerinfusion eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität auf. Zum anderen könnte das zugeführte Adrenalin zusätzlich Adrenalin aus dem Nebennierenmark ausschütten und so die oben beschriebene Wirkung hervorrufen. Für diese Erklärung sprechen die Bestimmungen des Katecholamingehaltes der Nebenniere nach Adrenalin-Injektion, die wie Phenylbutazon, Oestroneulfat u.a. zusätzlich Katecholamine aus dem Nebennierenmark freisetzen.

Andererseits war zu klären, ob evtl. eine vagale Gegenregulation, wie sie von balneologischer Seite ³⁴ vertreten wird, nach Adrenalin-zufuhr die Hyaluronidasehemmung hervorzurufen imstande ist. Diese Überlegungen wurden mit Acetylcholin und Prostigmin als Cholinesterasehemmer bzw. Dimethylaminoethanolglutamat als Cholin-accelerator an intakten und adrenaletomierten Tieren geprüft. Es zeigte sich, daß nur bei intakten, nicht aber adrenaletomierten Tieren eine Hyaluronidasehemmung auftritt. Die These von einem vagalen Gegenregulationsmechanismus mußte also fallen gelassen werden. Da es sich aber zeigte, daß bei intakten Ratten auch Acetylcholin eine Hyaluronidasehemmung auszulösen imstande ist, ist anzunehmen, daß auch Acetylcholin Katecholamine aus dem Nebennierenmark im Sinne einer Gegenregulation freisetzt.

Daß der Wirkungsmechanismus der hyaluronidasehemmenden Substanzen aller Wahrscheinlichkeit nach tatsächlich über eine Nebennierenmark-Katecholaminwirkung abläuft, zeigen Versuche mit Ergotamin als Adrenolyticum und Pendiomid als Ganglienblocker. Bei gleichzeitiger Applikation dieser Stoffe mit allen hyaluronidasehemmenden Substanzen außer Adrenalin und Noradrenalin bleibt die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität aus.

Im Falle des Adrenalins allerdings vermag nur Ergotamin die Hyaluronidasehemmung zu blockieren. Dies erscheint sinnvoll, da Ergotamin "lytisch" auf bereits ausgeschüttetes Adrenalin, Pendiomid

jedoch blockierend auf das Nebennierenmark als differenziertes sympathisches Ganglion wirkt. Dieselben Ergebnisse wurden bei Versuchen am Menschen gefunden.

Untersuchungen des Reserpins auf seine hyaluronidasehemmende Wirkung ergaben, daß auch Reserpin einen ausgesprochen hyaluronidasehemmenden Effekt aufweist und zwar auch in Verbindung mit Adrenolytica und Ganglienblockern. Dies spricht dafür, daß die Hyaluronidasehemmung durch Reserpin nicht, wie bei den übrigen geprüften Substanzen, durch ein Absinken des Katecholaminspiegels nach vorheriger Nebennierenmarkausschüttung zustandekommt, sondern durch ein Absinken des Katecholaminblutspiegels unter das Normalniveau. In Verbindung mit anderen hyaluronidasehemmenden Substanzen wie Na-Salicylat, Phenylbutazon und auch Adrenalin wird deren hyaluronidasehemmende Eigenschaft durch Reserpin aufgehoben, was ebenfalls auf eine Blockierung der Katecholamine durch Reserpin hindeutet.

Auch Iproniacid als monoaminoxidasehemmende Substanz vermag eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität hervorzurufen, die jedoch ebenfalls nicht über eine Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark erfolgt, da sie weder durch Ganglienblocker noch Adrenolytica blockiert werden kann. Vielmehr ist zu diskutieren, ob die laufende Freisetzung von Katecholaminen aus dem Nebennierenmark durch Iproniacid gehemmt wird und so über ein Absinken des normalen Katecholaminblutspiegels die Hyaluronidasehemmung auslöst.

Bei Versuchen mit längerdauernder Applikation hyaluronidasehemmender Substanzen kann festgestellt werden, daß auch noch nach einigen medikationsfreien Wochen eine signifikante Hyaluronidasehemmung zu verzeichnen ist. Wahrscheinlich handelt es sich dabei um eine laufend vermehrte, phasische Freisetzung von Nebennierenmarkskatecholaminen über einen längeren Zeitraum.

Alle diese Untersuchungsergebnisse zeigen, daß eine antirheumatische Wirkung unter Umständen über eine Aktivierung des Nebennierenmarks ausgelöst werden kann. Es ist deshalb zu diskutieren, ob nicht beim Rheumatiker grundsätzlich eine funktionelle Nebennierenmarksschwäche mit einer ungenügenden Adrenalinausschüttung besteht.

Für diese Überlegungen sprechen die Ergebnisse verschiedener Autoren. So empfehlen z. B. A r s ö v ³⁵ und S c h m i d t ³⁶ bei Rheumatikern eine Gabe von Mikrodosen Adrenalin i.v. über 3 bis 6 Monate. In diesem Sinne ist auch die von A x e l r o d ⁴¹ bei Rheumatikern gefundene verminderte Adrenalinausscheidung im Urin zu werten.

Interessant ist, daß C r e m e r i u s ³⁷ bei Untersuchungen von 160 Polyarthritikern in allen Lebensaltern und beiderlei Geschlechts einen vergleichsweise zur Durchschnittsbevölkerung niedrigen Blutdruck fand, wobei besonders der diastolische Wert auffallende Konstanz in vielen Lebensaltern zeigt. Ein Blutdruckunterschied im akuten bzw. subakuten zum chronischen Defektzustand war dabei nicht feststellbar. Damit übereinstimmende Ergebnisse konnten T u r n e r und L a n s b u r y ³⁸ und C o b b und Mitarbeiter ³⁹ bekanntgeben. Auch andere akute muskel-, gelenk- und nervenrheumatische Zustände zeigten als übereinstimmendes Symptom Hypotonie.

Im Sinne einer vagotonischen Reaktionslage bei Rheumatikern sind auch die Untersuchungsergebnisse von S t o l z ⁴⁰ zu werten. Sie zeigte an Hand von Messungen der Elektrodermatographie, daß Patienten mit chronischem Gelenkrheuma eine praktisch fehlende bzw. mangelhafte Reaktionsfähigkeit auf körperliche Belastung aufweisen. Auch die Ausgangswerte der Hautleitfähigkeit sind im Vergleich zu denen gesunder Versuchspersonen außerordentlich niedrig. Auffallend war in mehreren Fällen auch eine verminderte Reaktionsfähigkeit speziell in den Segmenten der betroffenen Gelenke. Es muß diskutiert werden, ob dieses Geschehen evtl. eine ursächliche Bedeutung für das rheumatische Krankheitsgeschehen hat.

- 1) Domenjoz, R.: Arch. exp. Path. Pharmacol. 225, 14 (1955)
- 2) Halpern, B. N. u. Briot, M.: Arch. int. Pharmacodyn. 91, 291 (1952)
- 3) Morrison, J. L., Richardson, A. D. u. Bloom, W. L.: Arch. int. Pharmacodyn. 88, 98 (1951)
- 4) Kelemen, E. u. Mitarbeiter: Acta endocrinol. 13, 231 (1953)
- 5) Lothmar, R.: Zschr. Rheumaforsch. 19, 1 (1960)
- 6) Jürgens, R. u. Bächthold, H. P.: zit.: Studer, A. u. Reber, K.: Rheumatismus als Problem d. exp. Med., Steinkopff-Verl. Darmstadt 1959
- 7) Pelloja, M.: Lancet I, 233 (1952)
- 8) Cochram, J. B., Watson, R.D., Reid, J.: Brit. med. J. 19, 1 (1950)
- 9) Schoen, R. u. Tischendorf, W.: Krankht. d. Knochen, Gelenke und Muskeln. Handb. d. inn. Med. IV, 6, 1, Springer-Verl., Berlin-Göttingen-Heidelberg 1954
- 10) Flaschenträger, B. u. Lehnartz, M.: Lehr- und Handbuch der phys. Chemie, Springer-Verl. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1954
- 11) Heim, E.: Fortpflz., Zuchthyg. u. Haustierbesamg. 4, 5 (1954)
- 12) Wense, T. u. Philadelphia, V.: Fund. baln.-bioclim. 1, 4 (1960)
- 13) Gibian, H.: Angewandte Chemie 63, 105 (1951)
- 14) Bywaters, E. G. L., Dixon, A. H.: zit. Giggilberger, H.: Dtsch. med. Wschr. 78, 1439 (1953)
- 15) Kleinsorge, H. u. Pohl, W.: Medizinische 1463 (1952)
- 16) Opsahl, J. C. u. Mitarb.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 52, 1141 (1950)
- 17) Schmidt, H. u. Mitarb.: Dtsch. med. Wschr. 75, 790 (1950)
- 18) Seifter, J. u. Mitarb.: Proc. Soc. exp. Med. Biol. 72, 277 (1949)
- 19) Schoen, R.: Ärztl. Fortbildg. 1 (1954)
- 20) Birke, G.: Acta med. Scand. 144, 455 (1953)
- 21) Wattenberg, W. u. Glick, D.: J. biol. Chem. 179, 1213 (1949)
- 22) Kvasniewski: zit. Fähndrich, W. H.: Medizinische 1450 (1952)
- 23) Guerra, F.: Science 103, 696 (1946)
- 24) Dorfman, A. u. Mitarb.: Am. J. Dis. Child. 77, 106 (1949)
- 25) Swyer, G. J. M.: Biochem. J. 42, 32 (1948)
- 26) Forrest, J. u. Mitarb.: J. Pharmacy Pharmacol. 4, 231 (1952)
- 27) Schoen, R.: 96 Fortb. Kurs f. Ärzte, Regensburg Okt. 1952
- 28) Sprunt, D.H.: Am. Rev. Tbc 59, 185 (1949)
- 29) Obal, A.: Ärztl. Wschr. 804 (1950)
- 30) Miller u. Dessert: zit. Beckmann, R. u. Kuhlmann, F.: Münch. med. Wschr. 96, 970 (1954)

- 31) Hiller, E.: zit. Kowarschik, J.: Internat. Moorkongr. Oktober 1954, Meran
- 32) Evers, A.: Monatskurse ärztl. Fortbildg. 75 (1954)
- 33) Höring, F. A. u. a.: zit. Mathies, H.: Pharmazie 12 (1957)
- 34) Fellingner, K. u. Schmid, J.: Münch. med. Wschr. 97, 524 (1957)
- 35) Arsov, D.: Rheumatizam 2 (1959)
- 36) Schmidt, R.: Therapie u. Prophyl. inn. Krankht., Urban & Schwarzenberg, Berlin/Wien 455 (1943)
- 37) Cremerius, J.: Klin. Wschr. 36, 7 (1958)
- 38) Turner, C. W. u. Lansbury, J.: Amer. J. Med. Sci. 227, 503 (1954)
- 39) Cobb, S., Anderson, F. u. Bauer, W.: New Engl. J. Med. 249, 553 (1953)
- 40) Stolz, R.: Diss. München 1960
- 41) Axelrod, J.: Science 126, 400 (1957)

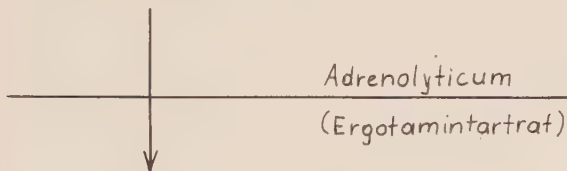
Zusammenfassung

Es wurden die von anderen Autoren mit einer Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading-Methode an der Ratte und am Menschen durchgeführten Untersuchungen mit hyaluronidasehemmenden Substanzen zusammengestellt. Durch kritische Betrachtung der Versuchsergebnisse wurde versucht, Anhaltspunkte für die Wirkungsweise der hyaluronidasehemmenden Substanzen (u. a. Salicylate, Pyrazolone, Chloroquin, Glucocorticoide) zu gewinnen. Die Auswertung der Ergebnisse sprach dafür, daß eine über eine Aktivierung des Nebennierenmarkes mit Ausschüttung von Katecholaminen laufende Wirkung vorliegt. Weiter ergaben sich Anhaltspunkte dafür, daß ein Absinken des Katecholaminblutspiegels, sowohl nach vorheriger Erhöhung durch Freisetzung aus dem Nebennierenmark oder durch experimentelle Zufuhr als auch durch Erniedrigung des Normalniveaus, sowie ferner eine periphere Sympathicus-Blockade eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität verursachen. Die Versuchsergebnisse, die zu diesen Folgerungen führten, wurden diskutiert. Es wurde auf anderweitige Versuchsergebnisse hingewiesen, die diese Befunde stützen.

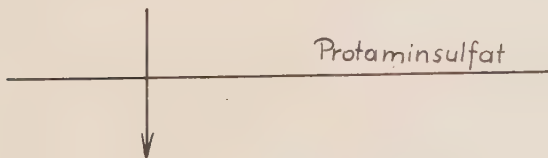
Hyaluronidasehemmende Substanz
(Antirheumatikum)



Nebennierenmark - Katecholamine
(Adrenalin / Arterenol)



Heparin (oder heparinähnliche Stoffe)



Hyaluronidasehemmung

Abschließend danke ich Herrn Professor Dr. W. Seitz für die Überlassung des Themas, Herrn Dr. H. Mathies für die Ratschläge und Hilfe bei der Gestaltung dieser Arbeit.

Lebenslauf

Ich wurde am 20.6.1937 als erstes von drei Kindern des Landwirtes Karl Erich Klötzer und dessen Ehefrau Herta, geb. Landgraf, in Neukirchen /Erzgebirge geboren. Die Volksschule besuchte ich in meinem Heimatort, die Oberschule in Stollberg im Erzgebirge. Dort machte ich im Mai /Juni 1955 das Abitur. Um an einer Universität der Bundesrepublik studieren zu können, mußte ich 1956 eine Ergänzungsprüfung zur Reifeprüfung an der Freiherr vom Stein-Schule zu Berlin ablegen.

Das Studium der Medizin begann ich im Wintersemester 1956/57 in Göttingen. Die ärztliche Vorprüfung legte ich an der Universität Heidelberg und die ärztliche Prüfung im Sommer 1962 an der Universität München ab. Seither war ich als Medizinalassistentin im Krankenhaus des III. Ordens München, in der Privat-Frauenklinik Roth München und in der Universitäts-Nervenklinik in München tätig.

Im August 1962 heiratete ich den Dipl. Ing. Gerhard Arnold.

